

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO

MUSEU NACIONAL

**IDENTIDADE E ALOCAÇÃO TAXONÔMICA DE DUAS FORMAS
SIMPÁTRIDAS DE *OXYMYCTERUS* (RODENTIA: SIGMODONTINAE)
DO SUDESTE DO BRASIL: UMA AVALIAÇÃO DE HIPÓTESES SOBRE
A DIVERSIDADE DO GÊNERO.**

Pablo Rodrigues Gonçalves

Dissertação apresentada à Coordenação de
Pós-Graduação em Zoologia do Museu
Nacional - Universidade Federal do Rio de
Janeiro, como parte dos requisitos
necessários à obtenção do grau de Mestre
em Ciências Biológicas – Zoologia.

Orientador: Dr. João Alves de Oliveira

Rio de Janeiro

2001

Trabalho desenvolvido no Setor de Mastozoologia do Departamento de Vertebrados do
Museu Nacional – UFRJ

Pablo Rodrigues Gonçalves

IDENTIDADE E ALOCAÇÃO TAXONÔMICA DE DUAS FORMAS
SIMPÁTRIDAS DE *OXYMYCTERUS* (RODENTIA: SIGMODONTINAE) DO
SUDESTE DO BRASIL: UMA AVALIAÇÃO DE HIPÓTESES SOBRE A
DIVERSIDADE DO GÊNERO.

Banca Examinadora:

Prof. Dr. João Alves de Oliveira
(Presidente da Banca)

Prof.^a Dra. Cibele Rodrigues Bonvicino

Prof. Dr. Sérgio Furtado dos Reis

Rio de Janeiro, 14 de setembro de 2001

FICHA CATALOGRÁFICA

GONÇALVES, Pablo Rodrigues

Identidade e Alocação Taxonômica de Duas Formas Simpátricas de *Oxymycterus* (Rodentia: Sigmodontinae) do Sudeste do Brasil: uma avaliação de hipóteses sobre a diversidade do gênero.

Rio de Janeiro, UFRJ, Museu Nacional, 2001. viii + 133pp.

Mestrado em Ciências Biológicas (Zoologia).

Palavras-chaves: 1. Mammalia 2. Rodentia 3. Sistemática
4. Biogeografia 5. *Oxymycterus* 6. Morfologia 7. Morfometria
8. Filogenia 9. Simpatría 10. Floresta Atlântica 11. Teses.

Universidade Federal do Rio de Janeiro – Museu Nacional

Teses

AGRADECIMENTOS

Este trabalho envolveu várias etapas, muitas vezes novas para mim, onde várias pessoas me auxiliaram. Sou grato ao meu orientador e amigo João Alves de Oliveira que durante estes dois anos de trabalho compartilhou muito de seu conhecimento comigo influenciando minha formação como biólogo e estando presente em todas as etapas de realização do trabalho, desde a criação inicial do projeto até sua finalização.

Agradeço à amiga e professora Gisele Lessa que além de ter me influenciado nos períodos iniciais da carreira mastozoológica, ajudou neste trabalho, participando e auxiliando na estrutura logística das campanhas de coleta em Viçosa. Ao professor Renato Feio por sua amizade durante a excelente convivência nas hospedagens no Rio e em Viçosa, além da ajuda direta em várias coletas. A professora Leila M. Pessoa gentilmente cedeu a infraestrutura de seu laboratório na UFRJ para trabalhos citogenéticos e processamento de espécimes, que contaram com a participação de Margaret O. Corrêa. Agradeço ao Prof. Jorge Dergam por emprestar a centrífuga em uma das campanhas de coleta, por viabilizar o convênio Museu Nacional-Museu de Zoologia “João Moojen de Oliveira” e pelas discussões sobre sistemática molecular.

Várias outras pessoas participaram ou viabilizaram as coletas de campo, tornando-as mais prazerosas e bem sucedidas. Dentre elas, José Brás dos Santos deu enorme contribuição aos trabalhos de campo, ajudando na implementação de 113 armadilhas “pitfall” durante uma semana de trabalho árduo. Agradeço também a José Lelis Pontes, que gentilmente forneceu transporte durante as coletas, registro cinematográfico dos animais e infraestrutura em geral no Museu de Viçosa. Os amigos Gabriel Yazbeck, Márcio M. Morais Jr. e Samuel Paiva participaram de algumas coletas e contribuíram com discussões sobre diferentes aspectos do trabalho.

A ajuda de algumas pessoas foi crucial durante minha passagem pela etapa molecular do projeto. O Prof. Héctor Seuánez gentilmente disponibilizou a estrutura de seu laboratório no INCA para a realização dos procedimentos de isolamento, amplificação e sequenciamento do citocromo-*b*. Sou grato a Cibele Bonvicino por sua grande ajuda na fase molecular do trabalho, auxiliando no meu aprendizado de diferentes técnicas, compartilhando amostras importantes e enriquecendo os procedimentos laboratoriais com sugestões que incrementaram sua eficiência. Miguel Moreira, Francisca Almeida (Chiquinha), Bernardo Lemos (Bê) e Esteban muitas vezes me auxiliaram nos procedimentos de laboratório e discutiram aspectos da biologia

molecular. Agradeço a Raquel Moura (IESB/UFMG) pelas amostras de tecido fornecidas, sem as quais as análises moleculares perderiam muita qualidade.

Durante minhas visitas aos museus, contei com o apoio e atenção de vários pesquisadores. Agradeço a Ulyses Pardiñas que me hospedou durante minha estadia em La Plata e Mar Del Plata na Argentina, além de fornecer amostras importantes para este trabalho. Os curadores Adriano Paglia (UFMG), Mariano Merino, Diego Verzi (MLP), Orlando Scaglia (Mar Del Plata) e Martha Piantanida (MCN) me receberam muito bem garantindo acesso à coleção e boas condições de trabalho.

No cotidiano carioca, contei com meu amigo e colega de apartamento Daniel Fernandes, com o qual discuti várias vezes sobre este trabalho entre uma cerveja e outra, junto com o pessoal da herpetologia Paulo, Clarissa, Mabi, Henrique, Patrícia e Gustavo (Moita). Sou grato aos professores José Pombal Jr. e Leandro Salles pelas discussões taxonômicas e sugestões durante fases anteriores do projeto. Agradeço à Alexandra Bezerra pela convivência no laboratório e discussões mastozoológicas.

Agradeço muito à minha namorada Josiani Uliana, que apesar da distância, sempre me apoiou, participando de algumas coletas e fornecendo toda a base emocional para condução deste projeto. Aos meus pais, Carlos e Graça, que me incentivaram e ajudaram desde o início, possibilitando a concretização de mais uma etapa profissional.

Agradeço ao Prof. José Guido do Departamento de Engenharia Florestal pela autorização dos trabalhos na Mata do Paraíso, ao IBAMA pelas licenças de captura concedidas (processo 02022.004626/99-94); à agência de fomento CNPq pela bolsa concedida durante meu mestrado; à Pós-Graduação em Zoologia pela infraestrutura concedida para realização desta tese.

Finalmente, agradeço a todos que diretamente ou indiretamente me ajudaram no decorrer destes anos que valeram muito a pena.

RESUMO

Oxymycterus é um gênero diverso de roedores neotropicais distribuído nas latitudes médias da América do Sul. A nomenclatura do gênero permanece confusa devido às dificuldades na delimitação morfológica de espécies e às controvérsias na aplicação de um conceito biológico de espécie a amostras alopátridas. Conseqüentemente, vários autores consideraram espécies descritas no Brasil como sinônimos de *O. rufus* (Fischer, 1814), dentre elas *O. dasytrichus* (Schinz, 1821), uma tendência que constitui uma hipótese nula sobre a diversidade de espécies no Brasil oriental. Uma hipótese alternativa de validade destes dois nomes foi proposta em uma revisão mais recente, considerando-os em dois grupos de espécies distintos: o grupo *rufus*, restrito ao nordeste argentino; e o grupo *dasytrichus*, incluindo populações do Brasil oriental. A descoberta de duas formas simpátridas de *Oxymycterus* em Viçosa, Minas Gerais, fenotipicamente similares a representantes destes dois grupos, estimulou investigações sobre o *status* destas populações como unidades evolutivas e seu relacionamento aos grupos de espécies *rufus* e *dasytrichus*, que forneceriam uma base para o teste das hipóteses de co-especificidade destes nomes. Duas abordagens metodológicas foram adotadas para inferências taxonômicas: (1) a análise da variabilidade morfométrica de 22 amostras geográficas dos grupos *dasytrichus*, *rufus* e *judex*, que foi posteriormente complementada com a análise de caracteres qualitativos cranianos, fálcos e externos; e (2) a análise filogenética de sequências de nucleotídeos do gene mitocondrial citocromo-*b*. As evidências morfológicas e moleculares sugerem que: (1) as duas formas simpátridas de Viçosa constituem duas espécies geneticamente e evolutivamente independentes; (2) estas duas espécies se alocaram aos grupos de espécies *dasytrichus* e *rufus*, conseqüentemente corroborando estes nomes como unidades taxonômicas válidas; (3) o grupo *dasytrichus* caracteriza-se por um gradiente geográfico norte-sul de incremento das dimensões cranianas, dentro do qual uma das formas de Viçosa está inserida; (4) o grupo *rufus* é constituído por uma única espécie representada por amostras argentinas e por uma das formas simpátridas de Viçosa, sugerindo uma distribuição geográfica descontínua para esta unidade. Finalmente, (5) as divergências morfológicas e moleculares de uma das formas simpátridas de Minas Gerais em relação às amostras argentinas sugerem um padrão de diferenciação devido a um isolamento pela distância, produto de uma estruturação geográfica recente de *O. rufus*.

ABSTRACT

Oxymycterus is a diverse neotropical rodent genus distributed at the middle latitudes of South America. The nomenclature of the genus remains obscure due to the difficulties in the morphological definition of species and to the controversies on the application of a biological species concept to alopatric samples. Therefore, several authors have considered the species described from Brazil as synonyms of *O. rufus* (Fischer, 1814), including *O. dasytrichus* described from Bahia, a tendency that represent a null hypothesis on the species diversity of the genus in southeastern Brazil. An alternative hypothesis of validation of these names was proposed in a recent revision that considered them in two different species groups: the *rufus* group restrict to northeastern Argentina, and the *dasytrichus* group encompassing samples from southeastern Brazil. The discovery of two sympatric forms of *Oxymycterus* in Viçosa, Minas Gerais, phenotypically similar to members of these groups, prompted investigations about the status of these populations as evolutionary units and their relationship with the *rufus* and *dasytrichus* species groups, which provided a framework to test the hypotheses of validity of these names. Two approaches were used to allow taxonomic inferences: (1) a morphometric analysis of 22 geographic samples of the *dasytrichus*, *rufus* and *judex* groups, complemented by the analyses of qualitative cranial, phallic and external characters; and (2) a phylogenetic analysis of cytochrome-*b* mitochondrial gene nucleotide sequences. The morphological and molecular evidence suggest the following conclusions: (1) the two sympatric forms from Viçosa comprise two genetically and evolutionary independent species; (2) these species were allocated to the *dasytrichus* and *rufus* species groups, thus supporting the validity of these names as distinct taxonomic units; (3) the *dasytrichus* group was characterized by northern-southern geographic gradient of increase in cranial dimensions, including the darker form from Viçosa; (4) the *rufus* group was revealed to include only one species, represented by samples from Argentina and from one of the sympatric forms of Viçosa, suggesting a discontinuous geographic distribution for this species group; (5) the morphological and molecular divergences of one sympatric form from Viçosa in relation to the argentine samples suggest an isolation by distance model of differentiation due to a recent geographic structuring of *O. rufus*.

ÍNDICE

AGRADECIMENTOS-----	iv
RESUMO-----	vi
ABSTRACT-----	vii
INTRODUÇÃO GERAL-----	1
CAPÍTULO I: Diferenciação morfológica e alocação taxonômica de duas formas simpátricas de <i>Oxymycterus</i> da Mata Atlântica.-----	10
1.1 INTRODUÇÃO-----	10
1.2 MATERIAIS E MÉTODOS-----	16
1.2.1 Material examinado e Composição das amostras-----	16
1.2.2 Análises Morfológicas-----	21
1.2.2.1 Morfometria multivariada-----	21
1.2.2.2 Morfologia qualitativa-----	29
1.2.3 Análises Preparatórias-----	32
1.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO-----	34
1.3.1 Morfometria Multivariada-----	34
1.3.2 Morfologia Qualitativa-----	44
1.3.3 Padrões de variação dentro dos grupos de espécies-----	58
grupo <i>dasytrichus</i> -----	58
grupo <i>rufus</i> -----	67
CAPÍTULO II: Padrões de divergência molecular e hipóteses de diversificação de duas formas simpátricas de <i>Oxymycterus</i> da Mata Atlântica.-----	79
2.1 INTRODUÇÃO-----	79
2.2 MATERIAIS E MÉTODOS-----	81
2.2.1 Amostras analisadas-----	81
2.2.2 Isolamento, amplificação e sequenciamento do gene citocromo <i>b</i> -----	85
2.2.3 Métodos analíticos-----	86
2.2.4 Grupo Externo-----	87
2.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO-----	89
2.3.1 Diferenciação Genética-----	89

2.3.2 Evolução Molecular-----93

2.3.3 Análises Filogenéticas-----94

CAPÍTULO III: Implicações taxonômicas e biogeográficas das análises morfológicas e
moleculares das formas simpátridas de Viçosa, Minas Gerais.-----102

3.1 IMPLICAÇÕES TAXONÔMICAS-----102

3.1.1 Status das duas formas simpátridas e diversidade de espécies da classe
grande-----102

3.1.2 Alocação taxonômica das formas simpátridas e validade das formas
nominais-----105

3.1.3 Identidade taxonômica das formas simpátridas-----108

3.2 CONSIDERAÇÕES BIOGEOGRÁFICAS-----114

CONCLUSÕES GERAIS-----119

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS-----121

APÊNDICE I: Exemplares examinados-----131

INTRODUÇÃO GERAL

*Diversidade e questões taxonômicas do gênero **Oxymycterus***

O gênero de roedores neotropicais *Oxymycterus* possui uma distribuição geográfica ampla nas latitudes médias da América do Sul, atingindo seu limite setentrional na margem sul do rio Amazonas, Brasil, e seu limite meridional no sul da Província de Buenos Aires, Argentina (Hershkovitz, 1994; Oliveira, 1998). Representantes do gênero podem ser encontrados em uma variedade de paisagens naturais, habitando desde encostas de florestas tropicais úmidas da costa atlântica a altiplanos andinos situados a mais de 3000 m de altitude. A multiplicidade de habitats ocupados por estes roedores se equipara à sua diversidade taxonômica, que corresponde a um total de 25 formas nominais descritas (Hershkovitz, 1994; Hershkovitz, 1998). Uma parte considerável destes nomes (treze) foi originalmente descrita com base em amostras coletadas em localidades da Argentina, Uruguai e Brasil, e muitos dos problemas taxonômicos do gênero envolvem a complexidade na identificação de populações parapátridas ou alopátridas às localidades-tipo nestas regiões. As dificuldades no reconhecimento taxonômico de amostras de *Oxymycterus* na costa atlântica freqüentemente têm influenciado trabalhos em outras áreas do conhecimento, como ecologia de comunidades (ex. Bonvicino et al., 1997; Olmos, 1991; Paglia et al., 1995), ecologia de populações (Bonaventura et al., 1991; Henriques & Alho, 1991), parasitologia (ex. Barros-Battesi et al., 1998) e genética (Kasahara & Yonenaga-Yassuda, 1984; Svartman & Almeida, 1993), onde as identificações das espécies do gênero envolvidas permanecem confusas.

Muitas das questões nomenclaturais existentes decorrem de controvérsias na interpretação taxonômica da variabilidade morfológica do gênero, que tem variado consideravelmente ao longo dos anos. A dificuldade na detecção de descontinuidades em caracteres morfológicos e citogenéticos tem levado alguns autores a postularem a co-especificidade de algumas formas nominais (Cabrera, 1961; Hershkovitz, 1994; Musser & Carleton, 1993; Reig, 1987; Vittulo et al., 1986). No entanto, a visão atual da diversidade morfológica de *Oxymycterus* foi subestimada durante longo tempo, e somente recentemente, análises mais detalhadas da variabilidade do gênero têm revelado

a existência de um maior número de espécies (Hershkovitz, 1998; Oliveira, 1998). Além disso, apesar da abrupta multiplicação dos estudos sistemáticos de roedores baseados em seqüências de DNA mitocondrial durante os últimos 10 anos, as questões taxonômicas básicas dentro do gênero têm sido raramente abordadas sob esta perspectiva, principalmente considerando as formas da costa atlântica. A combinação de métodos analíticos utilizando dados morfológicos e moleculares poderia contribuir ao conhecimento taxonômico do grupo, possibilitando testar hipóteses classicamente postuladas sobre a aplicabilidade dos nomes disponíveis na literatura e sobre a delimitação e integridade de espécies.

O presente trabalho surgiu do estudo morfológico e molecular de duas formas simpátricas de *Oxymycterus* de Viçosa, Minas Gerais, de identidades taxonômicas duvidosas. O esclarecimento do status taxonômico destas duas formas e a investigação de suas afinidades com formas nominais previamente reconhecidas da costa atlântica possibilitaram o teste de hipóteses taxonômicas sobre a diferenciação deste gênero no sudeste do Brasil. Essas hipóteses encontram-se enunciadas na próxima seção.

Hipóteses de diferenciação do gênero na Costa Atlântica

As hipóteses mais recentes de diferenciação do gênero restringem-se a dois trabalhos centrais, a compilação taxonômica e caracterização preliminar do gênero feita por Hershkovitz (1994), e a extensa revisão morfológica realizada por Oliveira (1998), sintetizando as informações contidas nas séries-tipo e nas descrições originais. Apesar deste último constituir-se de uma monografia ainda não publicada, esta obra tem sido citada em trabalhos taxonômicos (ex. Emmons, 1999). Os dois trabalhos diferem na delimitação taxonômica e geográfica de espécies e grupos de espécies e em suas abordagens metodológicas.

Hershkovitz (1994) dividiu as formas nominais do gênero em dois grupos geográficos, um atlântico e outro andino, especulando que cada um destes teria derivado de um ancestral comum. Cada divisão geográfica, por sua vez, foi subdividida em três classes de tamanho (grande, médio e pequeno) baseadas em três medidas externas obtidas de séries-tipo ou fornecidas nas descrições originais (comprimento condilobasal do crânio, comprimento da pata posterior com unha e comprimento da série molar), sendo

estas classes consideradas como grupos de espécies. A divisão Atlântica permaneceu constituída por 14 formas (uma adicionada mais tarde em Hershkovitz, 1998), sendo nove destas pertencentes à classe “grande” (Tabela 1.1). Apesar de Hershkovitz não formalizar sinonímias, ele propôs que a maioria das nove formas seria co-específica de *O. rufus* (Fischer, 1814), o nome mais antigo disponível. Embora a localidade-tipo de *O. rufus* tenha sido restrita por ele mesmo à província de Entre Rios (32°30’S), Argentina, a proposta de co-especificidade de populações do sul e sudeste do Brasil em relação a esta espécie implicaria na extensão considerável de sua distribuição geográfica e de seu conceito. Em vista da variabilidade morfológica expandida, amostras fenotipicamente distintas, principalmente em coloração de pelagem, foram propostas por Hershkovitz como variantes fenotípicos recorrentes dentro de uma mesma população.

Oliveira (1998), analisando a variabilidade de caracteres craniométricos, baculares e externos de 64 amostras populacionais, delimitou 10 grupos de espécies, alocando nestes 22 formas nominais como espécies ou subespécies através de comparação com séries e descrições originais (Tabela 1.1). As formas atlânticas *O. dasytrichus* e *O. judex*, pertencentes à classe grande de Hershkovitz e propostas como prováveis sinônimos de *O. rufus*, foram dissociadas e caracterizadas como dois grupos de espécies morfológicamente e geograficamente distintos. O grupo *dasytrichus* permaneceu constituído por populações distribuídas nos Estados da Bahia, Goiás, Minas Gerais, Espírito Santo, Rio de Janeiro e São Paulo, incluindo *O. dasytrichus* e *O. roberti* como espécies. O grupo *judex* foi composto por amostras da Província de Misiones, Argentina, e dos Estados brasileiros de Santa Catarina, Paraná, São Paulo e Rio de Janeiro, compreendendo as formas nominais *O. judex*, *O. misionalis* e *O. quaestor* como espécies. A dissociação entre as formas grandes do sudeste do Brasil e *O. rufus* restringiu esta espécie a amostras do nordeste argentino, incluindo as Províncias de Entre Rios, Córdoba, Corrientes e Buenos Aires. O grupo de espécies *rufus* permaneceu então integrado por uma única espécie politípica sem nenhuma amostra brasileira incluída nela. Os grupos de espécies obtidos por Oliveira apresentaram-se espacialmente contíguos, raramente sobrepostos geograficamente, o que o levou a postular a existência de uma consistência geográfica para cada grupo de espécie dentro do gênero *Oxymycterus*.

Tabela 1.1. Arranjos taxonômicos das formas nominais do gênero *Oxymycterus* em grupos de espécies segundo as duas revisões mais recentes do grupo.

Hershkovitz (1994)			Oliveira (1998)	
Divisões geográficas	Grupos de espécies (classes de tamanho)	Formas nominais incluídas	Grupos de espécies	Formas nominais incluídas
Atlântica	grande	<i>angularis</i>	grupo <i>angularis</i>	<i>angularis</i>
		<i>judex</i>		<i>hispidus</i>
		<i>misionalis</i>	grupo <i>judex</i>	<i>judex</i>
		<i>quaestor</i>		<i>quaestor</i>
	pequeno	<i>rufus</i>	grupo <i>rufus</i>	<i>rufus</i>
		<i>platensis</i>		<i>platensis</i>
		<i>dasytrichus</i>	grupo <i>dasytrichus</i>	<i>dasytrichus</i>
Andina	grande	<i>rostellatus</i> ¹		<i>roberti</i>
	pequeno	<i>roberti</i>	grupo <i>amazonicus</i>	<i>amazonicus</i>
		<i>amazonicus</i>	grupo <i>delator</i>	<i>delator</i>
		<i>delator</i>	grupo <i>nasutus</i>	<i>nasutus</i>
	grande	<i>nasutus</i>	grupo <i>nasutus</i>	<i>nasutus</i>
		<i>caparoe</i> ²	incertae sedis	<i>caparoe</i> ²
	pequeno	<i>inca</i>	grupo <i>inca</i>	<i>inca</i>
		<i>iris</i>		<i>iris</i>
		<i>juliacae</i>	grupo <i>juliacae</i>	<i>juliacae</i>
	grande	<i>doris</i>		<i>doris</i>
				<i>nigrifrons</i>
				<i>hiska</i>
	pequeno	<i>nigrifrons</i>	grupo <i>paramensis</i>	<i>jacentior</i>
		<i>paramensis</i>		<i>paramensis</i>
		<i>jacentior</i>		<i>akodontius</i>
	grande	<i>akodontius</i>		<i>hucucha</i>
	pequeno	<i>hiska</i>		
		<i>hucucha</i>		

1 - *O. rostellatus* foi tentativamente sinonimizado com *O. dasytrichus* em Oliveira (1998).

2 - *O. caparoe* foi descrita somente em 1998 por Hershkovitz e associada por este autor à classe pequena da divisão atlântica. Oliveira (1998) reconheceu esta forma apenas como uma espécie nova (*Oxymycterus* sp5) não a alocando em nenhum grupo de espécies.

Os arranjos taxonômicos proporcionados por cada um dos trabalhos compõem um conjunto de hipóteses de diferenciação do gênero na América do Sul. A visão de Hershkovitz (1994) consiste em uma interpretação mais conservadora da diversidade de espécies dentro do gênero, devido à sua proposição de que amostras alopátridas e morfologicamente variáveis possivelmente constituiriam membros de uma única entidade biológica. Já Oliveira (1998) considera um maior número de espécies válidas, reconhecendo maior complexidade na estrutura da variabilidade morfológica do gênero

ao longo de sua distribuição geográfica. Aparentemente, as principais divergências entre estes dois trabalhos se expressam em diferentes concepções sobre a taxonomia de populações pertencentes à classe grande de formas nominais da costa atlântica.

Um primeiro grupo de hipóteses relacionadas com essas controvérsias refere-se à questão básica do *status* das nove formas nominais da classe grande do Brasil oriental como espécies, ou seja, como unidades evolutivas geneticamente independentes. Estas hipóteses podem ser propriamente enunciadas como:

H_0 - as populações do Brasil oriental pertencentes à classe grande de Hershkovitz constituem representantes de uma mesma espécie (Hershkovitz), ou;

H_A - estas populações representam mais de uma espécie (Oliveira).

O teste destas hipóteses envolve basicamente a comparação tradicional entre amostras desta região do Brasil, o que foi realizado por Oliveira (1998), que analisando amostras alopátridas e parapátridas, rejeitou a hipótese nula de Hershkovitz (H_0). Entretanto, muitas vezes a decisão sobre o nível taxonômico (*status*) de diferenciação morfológica entre duas amostras alopátridas constitui uma tarefa complexa, uma vez que uma espécie biológica pode eventualmente variar no espaço e erros de amostragem da amplitude geográfica desta espécie podem revelar diferenças que não seriam suportadas se amostras geograficamente intermediárias fossem levadas em conta nas comparações. Excluindo casos em que as populações encontram-se geograficamente próximas, as divergências morfológicas entre duas formas alopátridas, dentro de um conceito biológico de espécie, sempre podem refletir a diferenciação marginal de uma única espécie devido a uma certa descontinuidade no fluxo gênico ocasionada pelo distanciamento geográfico (Frost & Hillis, 1990; Mayr & Ashlock, 1991; Nei, 1972).

Por outro lado, existe uma situação particular em que o *status* de duas populações pode ser inferido com maior precisão: a existência destas populações em simpatria. A verificação da manutenção de descontinuidades em caracteres não relacionados entre duas formas simpátridas constitui uma das evidências mais concretas de isolamento genético e independência evolutiva entre duas espécies (Mayr & Ashlock, 1991; Sites Jr & Crandall, 1997). Portanto, a comparação de amostras simpátridas oferece uma grande vantagem em relação ao estudo de amostras alopátridas, principalmente no que

concerne ao poder de decisão taxonômica e aplicabilidade de um conceito biológico de espécie.

Mas antes de prosseguir na discussão da análise de casos de simpatria, uma segunda questão deve ser considerada em adição ao *status* taxonômico das populações da classe grande do Brasil oriental. Esta questão diz respeito ao relacionamento destas populações aos nomes disponíveis na literatura e à subsequente conclusão sobre a validade destes nomes com base no teste da hipótese de co-especificidade enunciada anteriormente. As questões sobre *status* e alocação taxonômica não são mutuamente exclusivas, já que a validade de formas nominais depende do *status* taxonômico das populações que as representam, isto é se duas populações constituem duas espécies distintas, os nomes relativos a elas permanecem válidos. Deste modo, a alocação taxonômica das amostras da classe grande atlântica e a inferência sobre a validade dos nomes disponíveis para amostras desta região são apenas consequências sobre o *status* taxonômico de populações.

Portanto, o reconhecimento de populações da classe grande da costa atlântica como membros de uma mesma espécie implicaria na invalidação dos demais nomes descritos para esta região e posterior alocação destas populações ao nome mais antigo *O. rufus*, como foi sugerido por Hershkovitz (1994). Esta inferência poderia ser objetivamente expressa como:

H₂ – as formas nominais da classe “grande” do Brasil oriental se encontram associadas à *O. rufus*, constituindo sinônimos juniores desta espécie.

Por outro lado, as populações atlânticas podem se apresentar como componentes de várias espécies associadas a diferentes formas nominais do Brasil oriental, o que corroboraria a validade destes nomes perante *O. rufus*. Esta suposição expressa uma dedução derivada dos padrões gerais inferidos por Oliveira (1998) sobre a diversidade do gênero. Dentre eles, se encontra a constatação de grupos de espécies morfologicamente diferentes em relação a *O. rufus* no sudeste do Brasil, o que em princípio proibiria o relacionamento de amostras desta região com esta forma nominal descrita do nordeste da Argentina. Em adição, Oliveira propôs que os grupos de espécies em *Oxymycterus* se apresentariam moderadamente consistentes geograficamente, o que tornaria ainda mais improvável o relacionamento de amostras geograficamente distantes a um mesmo grupo

de espécies. As populações da classe grande do sudeste do Brasil e nordeste da Argentina (*O. rufus*), neste caso, constituiriam unidades biológicas independentes, de maior afinidade às formas nominais geograficamente mais próximas. Com base nos padrões gerais postulados por Oliveira a alocação das formas da classe grande poderia ser expressa como:

H₃ – as formas nominais da classe “grande” do Brasil oriental não se encontram associadas a *O. rufus*, e sim a grupos de espécies geograficamente mais próximos, como os grupos *dasytrichus* e *judex*, e estes formariam unidades taxonômicas válidas (proposta de Oliveira).

Mas como testar estas hipóteses? Como discutido anteriormente, a análise de formas simpátricas proporcionaria um grande poder de teste dos conjuntos de hipóteses de diferenciação das formas grandes do gênero no Brasil oriental. Neste contexto estão duas formas simpátricas de Viçosa, Minas Gerais (Figura 1.1). As distinções mais evidentes entre elas consistem nos padrões de coloração, que podem ser grosseiramente caracterizados como marrom-escuro e canela-avermelhado, fenótipos apresentados também por representantes dos grupos *dasytrichus*, *judex* e *rufus* delineados por Oliveira (1998). No entanto, o nível de diferenciação entre estas amostras permanece sem uma análise mais detalhada, e uma delas persiste com sua identificação taxonômica incerta (*Oxymycterus* sp. ex.: Lessa et al., 1999; Paglia et al., 1995). A outra população, por sua vez, tem sido associada na literatura com *O. rufus*, provavelmente devido à sua coloração predominantemente avermelhada (Lessa et al., 1999). Ambas têm sido reportadas ocupando simultaneamente os mesmos habitats de um fragmento de floresta tropical semidecídua, caracterizados pela dominância da gramínea exótica *Melinis minutiflora* (capim-gordura) (Lessa et al., 1999; Paglia et al., 1995).

Tendo em vista a vantagem da aplicação de um conceito biológico de espécie mediante a análise de amostras simpátricas, a determinação do *status* taxonômico das duas formas de Viçosa e o subsequente esclarecimento da relação de ambas às formas nominais e grupos de espécies, postulados como mais próximos, forneceriam uma boa base para o teste das hipóteses taxonômicas de diferenciação do gênero *Oxymycterus* no sudeste do Brasil verificando a validade de formas nominais do sudeste do Brasil, um assunto consideravelmente discutido ao longo da história taxonômica deste táxon.

Dentro deste contexto, esta dissertação possui como objetivos específicos:

- (1)- Esclarecer o *status* taxonômico (espécies distintas ou fenótipos intrapopulacionais) das formas simpátricas de *Oxymycterus* de Viçosa, Minas Gerais, visando o teste da hipótese nula de co-especificidade das formas grandes do Brasil oriental proposta por Hershkovitz (1994);
- (2)- Determinar a alocação taxonômica destas duas formas em relação aos grupos *dasytrichus*, *judex* e *rufus* avaliando as hipóteses H_2 e H_3 de relacionamento das formas do sudeste do Brasil com *O. rufus*;
- (3)- Clarificar a identidade taxonômica destas duas formas dentro dos grupos de espécies em que forem alocadas.

Como apontado anteriormente, a congruência entre caracteres não correlacionados na diferenciação de duas amostras simpátricas é fundamental para inferência de independência genética na delimitação de espécies (Mayr & Ashlock, 1991). Desta forma, esta dissertação envolveu a análise de conjuntos morfológicos distintos, incluindo estruturas como o crânio e a genitália masculina, funcionalmente não correlacionadas.

Análises de padrões de variação em haplótipos de DNA mitocondrial também foram realizadas procurando testar os agrupamentos obtidos com base nas análises morfológicas, fazendo uso de uma metodologia filogenética na inferência de relacionamentos entre unidades taxonômicas. Esta dissertação encontra-se então estruturada em três capítulos: o Capítulo I coloca as questões deste trabalho dentro da história taxonômica do gênero *Oxymycterus* e analisa estas questões utilizando métodos morfométricos e morfológicos; o Capítulo II aborda basicamente as mesmas questões taxonômicas enunciadas no primeiro capítulo, no entanto, sob uma perspectiva filogenética sustentada pela análise de padrões de variação de 410 pares de base do gene mitocondrial citocromo b; o Capítulo III, por fim, consiste na síntese de uma discussão geral, combinando evidências fornecidas pelas análises morfológicas e moleculares rumo a uma conclusão geral sobre a taxonomia das formas simpátricas de Viçosa e suas implicações nomenclaturais e biogeográficas.



Figura 1.1. Representantes da forma avermelhada (topo) e da forma escura (abaixo) de roedores do gênero *Oxymycterus* encontradas em simpatria na região de Viçosa, Minas Gerais.

CAPÍTULO I: DIFERENCIAÇÃO MORFOLÓGICA E ALOCAÇÃO TAXONÔMICA DE DUAS FORMAS SIMPÁTRIDAS DE *OXYMYCTERUS* DA MATA ATLÂNTICA.

1.1 INTRODUÇÃO

Evolução histórica do conceito de Oxymycterus rufus

A presente seção deste capítulo dedica-se a um breve histórico taxonômico do conceito de *O. rufus*, construído ao longo de dois séculos de estudos taxonômicos de roedores sigmodontíneos neotropicais. Esta forma nominal tem sido associada a várias formas do Brasil oriental e a determinação de seu conceito está intrinsecamente ligada à clarificação da taxonomia do gênero (Oliveira, 1998).

A associação de amostras do sudeste do Brasil a *O. rufus* não foi uma tendência expressa apenas por Hershkovitz, sendo que autores anteriores já haviam citado a ocorrência desta espécie para os Estados de São Paulo, Rio de Janeiro, Minas Gerais e Mato Grosso (Tabela 1.2). A razão desta tendência não é totalmente conhecida, entretanto, um retorno à descrição original de *O. rufus* do início do século XIX sugere algumas hipóteses.

A espécie foi originalmente descrita pelo espanhol F. Azara com o vernáculo de “rat roux” ou “rat cinquieme” em sua publicação transliterada para o francês “Essais Hist. Nat. Quadr. Paraguay” de 1801, onde não recebeu tratamento binomial formal, o que foi mais tarde concretizado por Fischer (1814) (Langguth, 1966). A descrição do “rat roux”, baseada em um único exemplar coletado por P. Nosedá em localidade não reportada, não é suficientemente precisa para excluir outras formas de *Oxymycterus* e até mesmo de roedores sigmodontíneos (ex. *Holochilus*, *Scapteromys*) de sua definição morfológica (Tate, 1932). Além disso, segundo o próprio Azara (1801), o rato já se encontrava consideravelmente danificado durante o tempo que permaneceu em álcool e muitas características poderiam ter sido alteradas até o momento de sua descrição. Mais tarde, em uma segunda publicação em espanhol (Azara, 1802), Azara descreve em detalhe um segundo exemplar canela-avermelhado, “el hocicudo”, obtido na latitude 32°30’S e considerado por ele como co-específico do primeiro indivíduo (“rat roux”), mencionado na versão francesa. Além de características como o focinho “em forma de trompeta”,

olhos diminutos e o aspecto canela-avermelhado da pelagem do segundo exemplar, as medidas da pata posterior mencionadas por Azara (1802) garantem uma alocação mais precisa de formas avermelhadas de *Oxymycterus*. Entretanto, o nome *O. rufus* continuou baseado na publicação francesa e a segunda descrição foi raramente mencionada durante o resto do século XIX. A relevância dada à primeira descrição, menos precisa, poderia explicar a razão dos autores subseqüentes na associação de amostras heterogêneas de outras regiões da Costa Atlântica a *O. rufus*. Além disso, os exemplares originais das duas descrições permanecem desaparecidos, impossibilitando concluir com exatidão sobre a identidade específica do primeiro roedor (“rat roux”) obtido por Nosedá e seu relacionamento com o segundo exemplar, provavelmente um *Oxymycterus*.

Durante os 50 anos que se seguiram após a descrição de *O. rufus*, três formas do Brasil oriental, *O. dasytrichus* (Schinz, 1821), *O. hispidus* (Pictet, 1843) e *O. rostellatus* (Wagner, 1842), foram descritas. A primeira, originalmente nomeada *Mus dasytrichus*, foi baseada em um exemplar coletado em Camamu, Bahia, durante a expedição do Príncipe Maximiliano de Wied. Mais tarde, o próprio Wied (1826) descreveu em detalhe um segundo exemplar do sul da Bahia, localidade posteriormente restrita ao baixo Mucuri (Avila-Pires, 1965), nomeado *Hypudaeus dasytrichus* e considerado por ele co-específico do primeiro espécime descrito em Schinz (1821). Já *O. rostellatus*, sem localidade específica (“Brasil?”), foi descrita por Wagner e *O. hispidus*, baseada em exemplares coletados por Blanchet na Bahia, foi descrita por Pictet (1843).

A tendência em associar populações de *Oxymycterus* do território brasileiro ao “rat roux” de Azara é iniciada com a consideração de *dasytrichus* e *rostellatus* como sinônimos juniores de *O. rufus* realizada por Burmeister (1854), descrevendo espécimes coletados em Nova Friburgo, Rio de Janeiro. Posteriormente, autores do final do século XIX expressaram a mesma visão de Burmeister sobre o *status* taxonômico de *dasytrichus* considerando-o como sinônimo de *rufus*. Pelzen (1883) e Winge (1887) referiram-se a populações de São Paulo, Minas Gerais e Bahia como *O. rufus*, corroborando a tendência cunhada por Burmeister. Trouessart (1898), em seu catálogo taxonômico de mamíferos, lista as espécies viventes e fósseis de *Oxymycterus* descritas até o final do século XIX, repetindo as sinonímias propostas por Burmeister incluindo a localidade de Nova Friburgo, Rio de Janeiro, e citando Minas Gerais como ocorrências de *O. rufus* no Brasil.

No dez primeiros anos do século XX, várias novas formas nominais de *Oxymycterus* do Brasil e Paraguai foram descritas por Oldfield Thomas (Thomas, 1900; 1909), incluindo *O. roberti* de Minas Gerais, *O. judex* de Santa Catarina e *O. quaestor* do Paraná. Apesar da disponibilidade de um maior número de nomes para amostras do Brasil, Allen (1916), Shufeld (1926) e Vieira (1953) continuaram referindo-se a populações de Mato Grosso, Santa Catarina e São Paulo, respectivamente, como *O. rufus* (Tabela 1.2).

Tabela 1.2. Distribuição geográfica de *O. rufus* no Brasil e formas nominais associadas a esta espécie ao longo dos trabalhos dos principais autores.

Autor	Distribuição de <i>O. rufus</i> em território brasileiro	Sinônimos ou formas incluídas como subespécies em <i>O. rufus</i> .
Burmeister (1854)	Nova Friburgo, Rio de Janeiro; Bahia (indiretamente pela inclusão de <i>dasytrichus</i>).	<i>rostellatus</i> , <i>dasytrichus</i>
Pelzen (1883)	Itararé, São Paulo.	nenhuma
Winge (1887)	Lagoa Santa, Minas Gerais; Bahia; "Brasil".	nenhuma
Trouessart (1898)	Minas Gerais; Nova Friburgo, Rio de Janeiro; Itararé, São Paulo (erroneamente citada como Amazônia).	<i>rostellatus</i> , <i>dasytrichus</i>
Allen (1916)	Campos Novos, Mato Grosso.	nenhuma
Shufeld (1926)	Santa Catarina.	nenhuma
Gyldenstolpe (1932)	nenhuma localidade brasileira incluída.	nenhuma
Ellerman (1944)	Bahia, Brasil: indiretamente devido à inclusão de <i>dasytrichus</i> .	<i>dasytrichus</i>
Cabrera (1961)	Brasil oriental; Mato Grosso; Mucuri, Bahia; Rio Grande do Sul.	<i>rostellatus</i> , <i>dasytrichus</i> , <i>nasutus</i> , <i>platensis</i>
Musser & Carleton (1993)	Sudeste do Brasil.	<i>rostellatus</i> , <i>dasytrichus</i> , <i>nasutus</i> , <i>platensis</i> , <i>rutilans</i>
Hershkovitz (1994)	Mato Grosso; Santa Catarina; São Paulo; Minas Gerais.	<i>rostellatus</i> , <i>dasytrichus</i> , <i>platensis</i> , <i>quaestor</i> , <i>judex</i> , <i>misionalis</i>
Oliveira (1998)	Nenhuma localidade brasileira incluída.	<i>platensis</i>

Gyldenstolpe (1932) restringe a localidade-tipo de *rufus* ao Paraguai, omite *O. dasytrichus* e considera *O. rostellatus* válido em sua compilação taxonômica de sigmodontíneos, estabelecendo sua localidade-tipo como “Leste do Brasil, Bahia”. Ellerman (1941) cita apenas *dasytrichus* como sinônimo de *rufus*, também validando *rostellatus* e repetindo as localidades-tipo citadas por Gyldenstolpe.

Cabrera (1961), em sua listagem de mamíferos da América do Sul, realiza um rearranjo substancial na nomenclatura do gênero, propondo várias formas nominais como subespécies de nomes mais antigos. Como exemplo, *dasytrichus*, *rostellatus*, *nasutus* e *platensis* como subespécies de *O. rufus*, ampliando a distribuição desta espécie para o Estado do Rio Grande do Sul, incluindo também países como Uruguai, Paraguai e Argentina na abrangência geográfica da espécie. Cabrera também restringiu a localidade-tipo de *O. rufus rufus* para Assunção, Paraguai, com base na opinião de Rengger (1830).

Musser & Carleton (1993) repetem o arranjo taxonômico e a distribuição geográfica postuladas por Cabrera (1961) ao nível de espécie, citando as subespécies incluídas em *O. rufus* como sinônimos. No entanto, estes autores levantaram dúvidas com relação aos limites específicos e geográficos de *O. rufus* com outras espécies de *Oxymycterus*, explicitando a obscuridade na restrição da localidade-tipo para Assunção, Paraguai, já que a ocorrência de uma forma avermelhada nesta região é pouco provável, uma vez que somente *O. delator*, uma espécie mais escura, tem sido reportada nesta localidade por autores recentes. A restrição da localidade-tipo de *O. rufus* mais ao sul, na província Argentina de Entre Rios, foi advogada por Musser & Carleton (1993) como a possibilidade mais plausível em vista da ocorrência de formas avermelhadas nesta região da Argentina.

Hershkovitz (1994) então restringe a localidade-tipo de *O. rufus* para o norte da Província de Entre Rios (32°30’S), Argentina, com base em sua interpretação das coordenadas geográficas fornecidas na segunda descrição de Azara (1802). No entanto, como explicitado anteriormente, Hershkovitz sugeriu a sinonimização de formas nominais distribuídas desde o Estado da Bahia até Santa Catarina, as quais ele incluiu em sua classe de formas “grande”, dentre elas *O. dasytrichus*, *O. hispidus*, *O. judex* e *O. quaestor*. Além da tendência de compressão da diversidade cunhada pelos autores anteriores, Hershkovitz foi estimulado a associar *O. rufus* com as formas grandes do

Brasil oriental devido à similaridade de medidas da pata posterior, caráter enfatizado por ele na definição de classes de tamanho dentro das divisões geográficas. A segunda descrição (Azara, 1802) fornece esta medida como 13'''', que foi convertida por Hershkovitz (1994; p.36) como 35,2mm, assim suportando a associação do segundo exemplar de Azara com as demais formas grandes da Costa Atlântica. Sua visão é concretizada na associação de exemplares do Parque Nacional do Caparaó, Espírito Santo, com *O. rufus*, citando medidas de pata posterior de 32-37mm (Hershkovitz, 1998: 242-243). Contudo, no mesmo trabalho, exemplares de Iporanga, São Paulo, com patas posteriores variando de 32 a 38mm de comprimento, são identificados como *Oxymycterus hispidus* sem que se esclarecesse a relação entre estes dois nomes.

Considerando a problemática de *O. rufus*, Oliveira (1998) finalmente restringe a distribuição geográfica de *O. rufus* às Províncias argentinas do Delta do Paraná e ao sul da Província de Buenos Aires, considerando a Província de Entre Rios (32°30'S) como localidade-tipo restrita por Hershkovitz (1994). As amostras do Alto Paraná (*O. misionalis*) são alocadas junto com amostras das regiões sul e sudeste do Brasil (*O. quaestor* e *O. judex*) ao grupo *judex*. As formas marrom-escuras do sudeste brasileiro agruparam-se no grupo *dasytrichus*, incluindo *O. dasytrichus* e *O. roberti*. Deste modo, o nome *dasytrichus* é dissociado pela primeira vez de *rufus*. *Oxymycterus rostellatus*, por sua vez, é sinonimizada a *O. dasytrichus*, que permanece como o nome mais antigo disponível para formas da costa do Brasil, razão pela qual este grupo de espécies, típico do bioma de Floresta Atlântica, foi intitulado. Uma das evidências morfológicas que basearam Oliveira na restrição de *O. rufus* para amostras do nordeste argentino consistiu na descoberta de uma conversão errônea da medida fornecida por Azara (1802) realizada por Hershkovitz (1994, 1998). A conversão de 13''' é corretamente proporcionada por Oliveira (1998) como 29,5mm, o que contribui na associação do segundo exemplar de Azara a espécimes do nordeste argentino. Além disso, padrões de variabilidade morfométrica e um conjunto de caracteres qualitativos garantiram a caracterização de *O. rufus* como uma unidade taxonômica divergente em relação às espécies do Brasil oriental.

De uma maneira geral ao longo de suas histórias taxonômicas, as espécies de *Oxymycterus* têm sido discriminadas com base em caracteres morfológicos vagamente

definidos ou sujeitos a uma grande variabilidade intrapopulacional, envolvendo a caracterização de tonalidades de pelagem e tamanho geral dos espécimes. Nas comparações de tamanho entre espécies, medidas externas e cranianas têm sido consideradas independentemente, apresentando relevância na delimitação de grupos de espécies (Hershkovitz, 1994). Esta abordagem não consiste na interpretação morfológica mais abrangente e adequada dos padrões de forma e tamanho, uma vez que nenhuma medida isolada consiste em um descritor eficiente da variação em tamanho. Estes padrões podem ser mais precisamente expressos e quantificados sob uma perspectiva multivariada, onde a covariância entre todos os caracteres é interpretada simultaneamente através de combinações lineares que sintetizam a variabilidade morfológica contida nas amostras analisadas (Bookstein et al., 1985; Humphries et al., 1981).

A abordagem clássica da diversidade morfológica de *Oxymycterus* foi recentemente questionada na revisão de Oliveira (1998), que difere dos enfoques taxonômicos clássicos por utilizar métodos específicos de análise multivariada da variação morfológica do gênero, como análise dos componentes principais e análises discriminantes, que serviram para diferenciação de grupos de espécies.

O gênero *Oxymycterus* tem sido marcado pela dificuldade na interpretação discreta de caracteres morfológicos tradicionalmente utilizados na taxonomia de roedores, prejudicando abordagens cladistas para inferência de agrupamentos interespecíficos. O enfoque morfométrico multivariado torna estas inferências tangíveis, apesar deste não se encontrar estritamente vinculado à postulação de hipóteses de relacionamento evolutivo. Este capítulo, portanto, trata de analisar as questões de *status* e identidade taxonômica das duas formas simpátricas de Viçosa, e o relacionamento de ambas aos grupos de espécies *dasytrichus*, *rufus* e *judex*, supostos como mais relacionados às formas de Viçosa em aspectos gerais de pelagem e tamanho. Posteriormente, a variação de caracteres qualitativos do crânio, genitália masculina e pelagem, tradicionalmente utilizados na taxonomia de roedores, foi interpretada à luz dos padrões de divergência morfométrica caracterizando e comparando os agrupamentos obtidos.

1.2 MATERIAIS E MÉTODOS

1.2.1 MATERIAL EXAMINADO E COMPOSIÇÃO DAS AMOSTRAS

Foram analisados 400 exemplares (Apêndice I) distribuídos em 26 amostras populacionais da Argentina e do Brasil, depositados nas seguintes instituições:

MZUSP – Museu de Zoologia da Universidade de São Paulo, São Paulo, SP, Brasil;

MN – Museu Nacional, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, RJ, Brasil;

MZUFV – Museu de Zoologia “João Moojen de Oliveira”, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, Minas Gerais, Brasil.

UFMG – Coleção do Laboratório de Mastozoologia, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG, Brasil.

UFPB – Departamento de Sistemática e Ecologia, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, PB, Brasil.

MLP – Museo de La Plata, La Pláta, Argentina.

MACN – Museo de Ciencias Naturales “Bernardino Rivadavia”, Buenos Aires, Argentina.

MMP Ma – Museo Municipal de Ciencias Naturales de Mar Del Plata “Lorenzo Scaglia”, Mar Del Plata, BA, Argentina.

As amostras utilizadas nas análises morfológicas foram compostas por exemplares de uma mesma localidade nos casos em que o número de indivíduos foi maior ou igual a 10. As localidades com menos de 10 indivíduos foram agrupadas com base na proximidade geográfica, constituindo amostras compostas. As identificações ao nível de grupos de espécies foram obtidas a partir da seção de espécimes examinados de Oliveira (1998). A preferência foi dada à primeira abordagem para seleção de amostras, visando testar alguns agrupamentos obtidos por Oliveira e evitando certa subjetividade *a priori* nas análises. Conjugando os dois procedimentos, um total de 14 amostras “grandes” foi considerado para as análises discriminantes independentes-de-tamanho (Tabela 1.3; Figura 1.2). Apenas uma parte das amostras dos grupos *dasytrichus* e *judex* do sudeste

do Brasil depositadas no Museu Nacional já havia sido incluída nas análises de Oliveira (1998). Da mesma forma, os exemplares do grupo *rufus* aqui analisados são em sua maioria inéditos, evitando-se assim uma circularidade nas informações utilizadas para as análises dos dois trabalhos.

A forma nominal *O. platensis* foi representada por seus topótipos contidos na amostra de Punta Lara, Província de Buenos Aires (“lara”). As amostras “pret” e “verm” correspondem às duas formas simpátricas de Viçosa, Minas Gerais e foram tratadas separadamente devido à distinção aparente na coloração da pelagem citada anteriormente. Membros das duas amostras puderam ser facilmente discriminados *a priori* com base nesse caráter, onde “pret” é caracterizada por indivíduos de pelagem predominantemente marrom-escura (forma escura) e “verm” por indivíduos de pelagem caracteristicamente canela-avermelhado (forma avermelhada) (Tabela 1.3).

Algumas localidades contendo poucos indivíduos permaneceram desagregadas devido à grande distância geográfica em relação a outros conjuntos ou por apresentarem indivíduos de alocação duvidosa (Tabela 1.4; Figura 1.2). Estas amostras reduzidas foram tratadas em análises morfológicas separadas sendo posteriormente alocadas às amostras grandes (veja alocação de amostras pequenas). As amostras “bhia” e “robe” tentativamente representaram as formas *O. dasytrichus* (Schinz, 1821) e *O. roberti* Thomas, 1901, respectivamente. A primeira amostra é constituída por apenas dois exemplares do Estado da Bahia, um deles representado por uma pele de Porto Seguro alocado por Oliveira (1998) ao grupo *dasytrichus* com base em caracteres externos e o outro recentemente obtido de Cairu (pele e crânio), localidade a 60km de distância da localidade-tipo de *O. dasytrichus* (Camamú, Bahia). A segunda amostra é constituída por seis exemplares de Anápolis, Estado de Goiás, também identificadas como representantes de *O. roberti* por Oliveira (1998) em comparações com o holótipo de Araguari, Minas Gerais.

Tabela 1.3. Abreviações, grupo de espécie pertencente, número de indivíduos, machos e fêmeas e localidades de proveniência das amostras “grandes” (n>10) utilizadas nas análises.

Amostras	Grupos de espécies (Oliveira, 1998)	Tamanho amostral	Localidades
1 - arro	<i>rufus</i>	30 indivíduos 17m, 6f	Arroyo Brusquitas (38°15'S, 57°46'W), Arroyo de las Corrientes (38°00'S, 57°33'W), Arroyo seco (38°22'S, 60°15'W), Chapadmalal (38°02'S, 57°43'W), Miramar (38°16'S, 57°43'W), Província de Buenos Aires.
2 - bera	<i>rufus</i>	13 indivíduos 4m, 4f	Berazategui (34°46'S, 58°13'W), Província de Buenos Aires
3 - corr	<i>rufus</i>	10 indivíduos 2m, 2f	Yacyretá (28°15'S, 58°38'W), Depto. Saladas, Santa Tecla (27°38'S, 56°22'W) Depto. Ituzaingó, San Juan Poriahu (27 °42'S, 57°11'W), Depto. San Miguel, Província de Corrientes.
4 - delt	<i>rufus</i>	42 indivíduos 8m, 11f	INTA - Otamendi (34°10'S, 58°55'W), Campos Del Tuyu, Província de Buenos Aires.
5 - ilha	<i>dasytrichus</i>	26 indivíduos 15m, 9f	Ilha Grande (23°09'S, 44°14'W), Angra dos Reis, Estado do Rio de Janeiro.
6 - Lara	<i>rufus</i>	36 indivíduos 9m, 10f	Punta Lara – Ensenada (34°51'S, 57°51'W), Buenos Aires: topótipos de <i>O. platensis</i> Thomas.
7 - pret	?	18 indivíduos 12m, 6f	População escura de Viçosa (20°45'S, 42°52'W), Minas Gerais.
8 - Sant	<i>dasytrichus</i>	16 indivíduos 11m, 3f	Santa Teresa (19°56'S, 40°36'W), Estado do Espírito Santo.
9 - tere	<i>judex</i>	14 indivíduos 1m, 4f	Teresópolis (22°24'S, 42°57'W), Estado do Rio de Janeiro.
10 - torn	<i>rufus</i>	25 indivíduos 9m, 14f	Abra de la Ventana (38°06'S, 62°14'W), Tornquist, Província de Buenos Aires.
11 - ubat	<i>dasytrichus</i>	33 indivíduos 19m, 12f	Ubatuba (23°26'S, 45°04'W), Estado de São Paulo.
12 - vent	<i>rufus</i>	38 indivíduos 22m, 3f	Sierra de la Ventana (38°09'S, 61°59'W), Província de Buenos Aires.
13 - verm	?	21 indivíduos 13m, 7f	População avermelhada de Viçosa (20°45'S, 42°52'W), Minas Gerais.
14 - vnov	<i>dasytrichus</i>	10 indivíduos 4m, 5f	Venda Nova do Imigrante (20°20'S, 41°08'W), Estado do Espírito Santo.

Tabela 1.4. Abreviações, tamanho amostral e localidades das amostras “pequenas” ($n < 10$ ind.) utilizadas nas análises.

Amostras (abreviações)	Tamanho amostral	Localidades
15 – bhia	2 2f	Porto Seguro (16°26'S, 39°03'W); Cairu (13°29'S, 39°02'W); Estado da Bahia: representantes de <i>O. dasytrichus</i> Schinz.
16- cara	5 3m, 2f	São João do Jacutinga – Caratinga (20°36'S, 41°11'W), Estado de Minas Gerais.
17 – cast	3 1m	Castelo (19°47'S, 42°08'W), Estado do Espírito Santo.
18 – cord	5	Pampa de Achala (31°35'S, 64°50'W), Província de Córdoba.
19 – itac	2 2m	Parque Estadual do Itacolomi - Ouro Preto (20°26'S, 43°29'W), Estado de Minas Gerais.
20 - ouro	1 1m	Ouro Preto (20°17'S, 43°30'W), Estado de Minas Gerais.
21 – prtí	9 4m, 3f	Parati (23°13'S, 44°42'W), Estado do Rio de Janeiro.
22 - pass	7 6m, 1f	Passos (20°43'S, 46°36'W), Estado de Minas Gerais.
23 - rese	5 2m, 2f	Resende (22°28'S, 44°26'W), Estado do Rio de Janeiro.
24 - rios	6 2m, 3f	Parque Nacional El Palmar (31°49'S, 58°15'W), Depto. Colón; Yuquerí (31°23'S, 58°07'W), Província de Entre Rios.
25 - robe	6 2m	Anápolis (16°19'S, 48°57'W), Estado de Goiás; amostra identificada por Oliveira (1998) como <i>O. roberti</i> Thomas.
26 - sanl	2 2m	Villa del Carmen (33°08'S, 65°05'W), Província de San Luis.

1.2.2 ANÁLISES MORFOLÓGICAS

1.2.2.1 MORFOMETRIA

Caracteres morfométricos crânio-dentários

Vinte caracteres cranianos foram medidos em 371 exemplares por meio de um paquímetro digital com precisão de 0,01mm constituindo a base das análises morfométricas (Figura 1.3). A maioria dos caracteres (13) encontra-se descrita por De Blase & Martin (1981), sendo estes usualmente utilizados em estudos morfométricos tradicionais de mamíferos. Seis caracteres (CTN, CPP, LRA, LPZ, CIP, LIP) são mais restritos a estudos de sistemática de roedores, e suas definições podem ser encontradas nos trabalhos de Carleton & Musser (1989) ou nesta própria seção. Dos 20 caracteres, cinco (LAZ, LPZ, CMC, LIO, CNA) são homólogos a medidas utilizadas por Oliveira (1998). O comprimento da mandíbula (CMA) foi derivado de DeBlase & Martin (1981) com modificações, sendo que o limite anterior desta medida no presente trabalho consiste na extremidade dorsal anterior do alvéolo incisivo, e não na extremidade ventral anterior como definido por estes autores.

Os caracteres e suas definições se encontram listados abaixo:

CMC (comprimento máximo do crânio): da extremidade mais posterior do occipital até a extremidade mais anterior dos nasais ao longo do plano mediano do crânio, excluindo a ossificação pré-nasal.

CNA (comprimento dos nasais): da extremidade mais anterior dos nasais até a região da sutura fronto-nasal, tomado ao longo do plano mediano do crânio.

CTN (comprimento do tubo nasal): da extremidade mais anterior da parede lateral do pré-maxilar até a porção antero-ventral do alvéolo incisivo.

CDI (comprimento do diastema): distância entre os incisivos e a série molar.

CMO (comprimento da série molar): medido no nível das coroas de M1 e M2.

CFI (comprimento do forâmen incisivo): medido do limite anterior (pré-maxilar) ao limite posterior (maxilar).

CPA (comprimento do palato): medido da extremidade anterior do processo pré-maxilar entre os incisivos até a extremidade posterior do palato ósseo, ao longo do plano mediano do crânio.

CPP (comprimento da ponte palatal): do limite maxilar posterior do forâmen incisivo até a extremidade posteromediana do palato ósseo.

LRO (largura rostral): medida no nível da cápsula nasolacrimal.

LRA (largura máxima da região anteorbital): medida no nível do lacrimal.

LAZ (largura máxima do arco zigomático): medida no nível do processo zigomático do esquamosal.

LPZ (largura da placa zigomática): medida na base maxilar da placa zigomática, do limite anterior ao posterior.

LCA (largura da caixa craniana): medida na região temporal, no ponto imediatamente anterior à sutura entre o esquamosal e o occipital.

LIP (comprimento do interparietal): distância antero-posterior do eixo mediano do interparietal.

LIP (largura máxima do interparietal): medida dos limites laterais do interparietal.

LIO (largura mínima da região interorbital): medida na constrição interorbital.

LBU (largura máxima da bula auditiva): medida do ponto ventral delimitado pela sutura formada basiesfenóide e basioccipital ao ponto dorsal delimitado pela sutura entre os parietais, ao longo do plano sagital do crânio.

PRO (profundidade da região rostral): medida no nível da sutura entre o pré-maxilar e o maxilar, posicionando o paquímetro sobre os nasais e região diastemal.

PCA (profundidade da caixa craniana): medida posicionando-se a extremidade do paquímetro na sutura basiesfenóide e na sutura fronto-parietal.

CMA (comprimento máximo mandíbula): da extremidade anterodorsal do alvéolo incisivo ao processo coronóide.

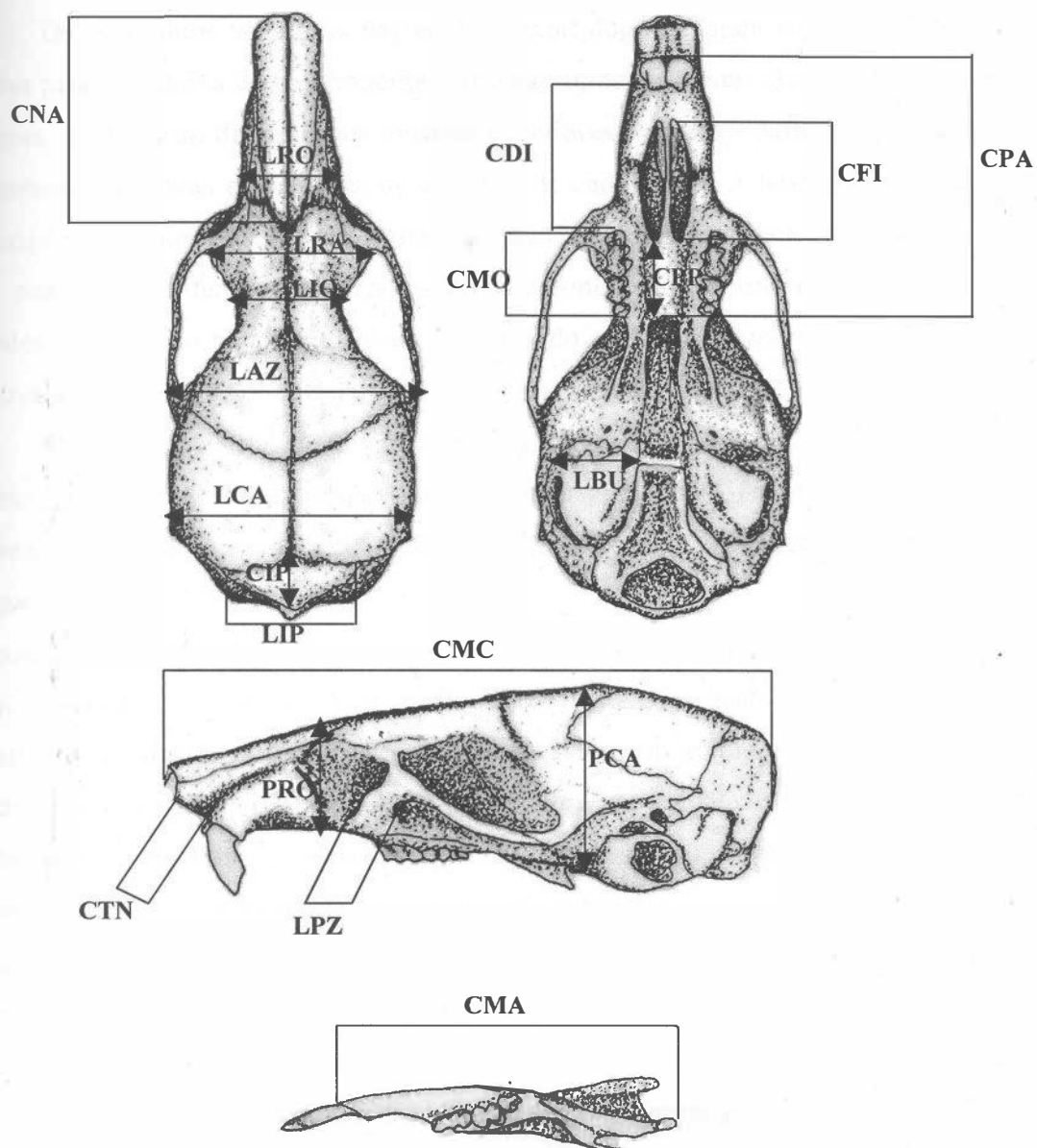


Figura 1.3. Caracteres morfométricos cranianos utilizados nas análises.

Classes etárias

Os indivíduos utilizados nas análises morfológicas foram separados em classes etárias para estimativa do componente etário nas amostras. Estas classes foram baseadas no grau de desgaste dentário dos molares superiores inferido a partir das condições de ocorrência de dobras e projeções de esmaltes de cada molar. A terminologia usada nas descrições da topologia dentária segue Reig (1977). A variação das estruturas esmaltadas tem sido fortemente correlacionada com componentes de variação ontogenética em estudos de roedores sigmodontíneos, constituindo, portanto, bons estimadores de idade relativa de roedores (Brandt & Pessoa, 1994; Voss & Marcus, 1992).

Oito classes etárias foram estabelecidas, sendo elas:

Classe 0: M1 e M2 não desgastados, com cúspides bem acuminadas, posterolobo presente; M1 com anteroflexo mediano bem marcado; M3 recém-eclodido e não desgastado.

Classe 1: M1, M2 e M3 pouco desgastados, com superfície oclusiva estreita e cúspides pouco desgastadas; M1 com anteroflexo mediano bem marcado; M1 e M2 com paraflexos e metaflexos bem distintos penetrando a superfície oclusiva até seu eixo mediano e circundando o paracone e protocone, respectivamente; M3 com paracone, metacone e protocone moderadamente desgastados, mas ainda distintos; hipocone ausente; paraflexo, protoflexo e hipoflexo ainda presentes.

Classe 2: M1, M2 e M3 moderadamente desgastados, com superfície oclusiva estreita, com cúspides linguais arredondadas; M1 com anteroflexo mediano reduzido, paraflexo e metaflexo distintos e muro anterior mais estreito do que o posterior; M2 contendo apenas paraflexo, com muro anterior na mesma condição do muro posterior de M1; M3 com hipocone ausente e dobras de esmalte ainda visíveis.

Classe 3: M1, M2 e M3 gastos, com superfície oclusiva bem proeminente e cúspides arredondadas; M1 com anteroflexo mediano muito reduzido ou ausente; M1 e M2 com muros ausentes, paraflexo e metaflexo reduzidos ou ausentes; M3 somente com paracone distinto, as outras cúspides e as dobras de esmalte ausentes.

Classe 4: M1, M2 e M3 com superfície oclusiva bastante expandida, cúspides arredondadas e pouco salientes da margem da coroa; M1 com anteroflexo mediano ausente; M2 com paraflexo vestigial ou ausente; M3 apresentando apenas paracone

distinto e margem labial com concavidade acentuada, garantindo um aspecto de “C” ao molar.

Classe 5: M1 e M2 muito desgastados, com cúspides desgastadas e posicionadas na margem da coroa; M2 com aspecto bilofodonte (em “forma de 8”); M3 com paracone distinto, sem concavidade na margem labial.

Classe 6: M1 e M2 muito desgastados, com cúspides desgastadas e posicionadas na margem da coroa; M2 bilofodonte (em “forma de 8”); M3 totalmente cilíndrico, com todas as cúspides.

Classe 7: M1 e M2 muito desgastados, com cúspides muito reduzidas ou ausentes; M2 com aspecto quadrangular; M3 cilíndrico.

Indivíduos apresentando condições de duas classes etárias adjacentes foram classificados como intermediários. No entanto, a frequência destes indivíduos foi tão baixa que não houve necessidade de subdivisão das oito classes.

Estimativa dos dados ausentes

Alguns indivíduos apresentaram estruturas do crânio quebradas ou danificadas impossibilitando a mensuração precisa de certos caracteres com paquímetro. Os exemplares contendo no máximo quatro caracteres ausentes (20% dos caracteres) tiveram seus dados ausentes estimados através de uma rotina de verossimilhança máxima de expectativa-maximização (Dempster et al., 1977). Este procedimento estima os dados ausentes ajustando iterativamente a matriz de variância-covariância dos caracteres de forma que a estrutura original dos dados presentes não é acentuadamente alterada.

Com o objetivo de se avaliar o viés deste tipo de procedimento nos resultados analíticos, um método de regressão múltipla dos caracteres em relação ao primeiro componente principal (Oliveira & Strauss, 1996) foi paralelamente utilizado. Os resultados das análises multivariadas obtidos de matrizes estimadas pelos dois métodos não diferiram entre si, demonstrando pouca tendenciosidade nos algoritmos de estimativas, apesar dos dois procedimentos serem logicamente distintos.

Componentes principais e Análise Independente-de-Tamanho

A partir da matriz de variância-covariância dos 20 caracteres log-transformados das 14 amostras, contendo indivíduos de todas as idades, foram extraídos autovalores e autovetores representando a variância total de todas as amostras, em uma análise de Componentes Principais (Pearson, 1901). Este procedimento teve como objetivo apenas explorar os padrões gerais de variação no tamanho e forma ao longo das amostras, não concluindo sobre agrupamentos interespecíficos. No caso de correlação positiva de todos os caracteres com o primeiro componente principal, este eixo foi interpretado como um fator de variação associado principalmente ao tamanho geral (Reis et al., 1990; Strauss, 1985). O primeiro componente principal geralmente tem sido considerado como um bom descritor multidimensional de variação do fator de tamanho em estudos de populações de roedores representando vários estágios ontogenéticos (Reis et al., 1990; Voss et al., 1990; Voss & Marcus, 1992; Voss, 1992). A variância deste fator latente pode ser decomposta nas variabilidades interpopulacional e intrapopulacional, ambas relacionadas a diferenças de tamanho. O último elemento se encontra influenciado por fontes ontogenéticas de variação, diferenças de intervalos etários entre amostras ou mesmo erros de amostragem, podendo eventualmente confundir ou obscurecer padrões de variação geográfica em organismos com grandes amplitudes de tamanho corporal (Reis et al., 1990; Strauss, 1985).

Com o objetivo de corrigir a influência da variabilidade intragrupal associada ao fator-tamanho, uma Análise Canônica Discriminante Independente-de-Tamanho foi realizada. Nesta análise, as médias dos caracteres de todos os grupos foram centradas em zero, obtendo-se em seguida uma matriz de covariância-variância representando a variabilidade intragrupo de todas as amostras. O primeiro componente principal extraído a partir desta matriz foi então considerado como um eixo descritor do fator-tamanho intrapopulacional. Para isolamento da variabilidade morfométrica não relacionada a este fator, cada caráter foi separadamente regredido em relação ao primeiro componente principal e os resíduos obtidos da regressão representaram a porção da variabilidade do caráter não-relacionada ao tamanho. Estes resíduos combinados com as medidas originais dos espécimes permitiram a obtenção de uma nova matriz de medidas, agora

independentes do fator-tamanho intragrupal (Reis et al., 1990). A partir desta nova matriz de dados, foram calculadas matrizes de covariância-variância que subsidiaram a extração de autovalores e autovetores canônicos resumindo a discriminação morfométrica entre amostras (Pessôa & Reis, 1994). As correlações entre os caracteres e os componentes principais foram expressas através dos coeficientes de correlação de Pearson (r) entre os caracteres e os escores dos componentes principais (Strauss, 1985).

Distância de Mahalanobis

A distância entre os grupos foi estimada relevando, além da distância acumulada entre as médias de todos caracteres, a covariância entre eles, consistindo em uma estimativa multivariada ou multidirecional da separação entre os centróides de cada grupo. A Distância de Mahalanobis (D^2) é a estimativa que melhor se ajusta nesta abordagem, constituindo a base para as quantificações das separações entre grupos (Manly, 1994).

Com o objetivo de obter-se distâncias entre grupos corrigidas para o fator tamanho, as Distâncias Mahalanobis foram computadas com base na matriz de resíduos das variáveis originais obtida pela regressão ao primeiro componente principal explicada acima.

Análise de Variância Multivariada

A Análise de Variância Multivariada (MANOVA) foi utilizada nos estudos de variabilidade intrapopulacional relativos à quantificação do dimorfismo sexual secundário relacionado aos caracteres craniométricos. A hipótese nula testada nestes procedimentos foi sempre de homogeneidade morfométrica multivariada entre sexos, ou seja, a ausência de qualquer dimorfismo sexual nos 20 caracteres morfométricos utilizados.

Análises de agrupamento

Para a construção de dendrogramas de agrupamento das amostras dois métodos foram utilizados, o UPGMA e o *neighbour-joining*, baseados nas Distâncias Mahalanobis (independentes-de-tamanho) obtidas. O método de UPGMA procede analisando as

distâncias entre as populações par a par, primeiramente produzindo grupos de duas populações que possuam a menor distância entre si. Uma vez estabelecidos, os vários grupos produzidos são conectados entre si de acordo com as distâncias médias entre eles. Uma desvantagem deste método é que muitas vezes elementos de distâncias intermediárias em relação a um determinado par de elementos não é posicionado intermediariamente e sim unido a outra amostra com a distância mais próxima deste elemento intermediário, pois uma vez estabelecidos, os pares nunca são reavaliados.

O procedimento de *neighbour-joining* (Saitou & Nei, 1987) atua de forma mais interativa, produzindo pares de unidades que sempre são reavaliados quando uma nova unidade de distância próxima é agrupada ao par previamente formado, possibilitando o posicionamento correto de unidades que tenham distâncias intermediárias. Outra propriedade característica do *neighbour-joining* é a capacidade de expressar a distância entre as amostras através do comprimento dos ramos. Os dois métodos foram utilizados para comparação.

Classificação a posteriori de amostras reduzidas

As amostras reduzidas (Tabela 1.4) foram associadas às maiores amostras (Tabela 1.3) com base nos valores de distância de Mahalanobis (corrigida) estimados. Uma amostra pequena foi relacionada com uma determinada amostra grande quando a distância entre ambas foi menor do que a distância da amostra pequena com qualquer outra amostra grande. Ainda, com o objetivo de se estimar a consistência destas associações, as distâncias entre amostras pequenas e grandes foram estimadas 1000 vezes, sempre re-amostrando aleatoriamente as matrizes originais com substituição (*bootstrap*) e re-estimando as distâncias de Mahalanobis a cada replicação. Desta forma, obteve-se o número de vezes em que duas amostras (pequena e grande) se associaram por apresentarem as menores distâncias de Mahalanobis ao longo de 1000 replicações.

Uma vez associadas às amostras maiores, as amostras pequenas foram consideradas em análises posteriores de variabilidade ao longo de cada grande agrupamento (grupo de espécies) delineado nas análises discriminantes e de agrupamento primordiais.

Pacotes estatísticos e programas utilizados

Todas as análises multivariadas foram realizadas no programa MatLab versão 4.3 (MathWorks) utilizando algoritmos escritos por R. E. Strauss e disponíveis na Internet (<http://www.biol.ttu.edu/Faculty/FacPages/Strauss/Matlab/matlab.htm>). O pacote estatístico Statistica versão 5.0 foi paralelamente utilizado para o cálculo de coeficientes de correlações (Pearson e Spearman), estatísticas descritivas e testes univariados não-paramétricos confirmando análises realizadas no MatLab.

1.2.2.2 MORFOLOGIA QUALITATIVA

A variabilidade de caracteres qualitativos cranianos e penianos foi interpretada à luz dos padrões de divergência morfométrica, complementando comparações e descrições das populações amostradas e avaliando a congruência entre a abordagem quantitativa e qualitativa na alocação dos fenótipos simpátridos de Viçosa. A análise dos caracteres cranianos e penianos (conjuntos não correlacionados funcionalmente) consistiu a base para conclusões a respeito do *status* das formas de Viçosa, Minas Gerais.

Crânio

Caracteres cranianos foram descritos seguindo a terminologia utilizada por Carleton (1980), Carleton & Musser (1989) e Voss (1993).

Alguns caracteres demonstraram polimorfismos intrapopulacionais aparentemente independentes de fatores sexuais ou ontogenéticos. Esta variação foi expressa através de histogramas de frequências relativas de ocorrência dos estados de cada caráter dentro das amostras, possibilitando comparações das distribuições de atributos morfológicos não fixados nas amostras populacionais estudadas (Wiens, 1995).

Morfologia peniana

As glândulas foram removidas de 20 exemplares representados por peles ou carcaças mantidas em meio líquido. Os procedimentos de preparação das glândulas adotados são similares aos de Hooper (1959) e Lidicker (1968). O material dissecado foi primeiramente fixado em formol 4% para preservação de espinhos e outras estruturas epidérmicas, e, em seguida, submetido a um processo de hidratação e clareamento em

solução de KOH 2-4%. As peças obtidas de peles secas foram clareadas mais rapidamente (4-6 dias) do que aquelas obtidas de carcaças em meio líquido (6-8 dias). As peças parcialmente ou totalmente clareadas foram coradas com Alizarina Red 0,003% para melhor visualização do báculo ósseo. Depois de corado, o material foi estocado em glicerina, passando por um gradiente de concentrações (20%, 40%, 60% e 100%). O material preparado será depositado nas instituições de origem supracitadas.

Durante todo o processo, figuras das glândes e báculos ilustrando suas morfologias foram realizadas com o auxílio de uma lupa acoplada à câmara clara. As descrições de caracteres penianos e baculares seguiram basicamente as terminologias utilizadas por Hooper & Musser (1964) e Spotorno (1992). A caracterização qualitativa das glândes foi focada na variação morfológica apresentada pelos processos uretrais, papila dorsal, margem da cratera, aspecto geral da glânde e báculo (Figura 1.4).

Nove caracteres quantitativos (Figura 1.4) foram medidos utilizando-se uma ocular milimetrada, sendo eles:

CBP – Comprimento do báculo ósseo: medido mediano-dorsalmente partindo da base proximal até a extremidade mais distal do báculo ósseo.

LB - largura máxima da base proximal do báculo ósseo.

CG – Comprimento máximo da glânde: medido do ponto de inserção do prepúcio até a extremidade mais distal dos tecidos que envolvem os dígitos cartilagosos (*bacular mounds*).

LMG – Largura máxima da glânde.

PB – Profundidade da base proximal do báculo ósseo

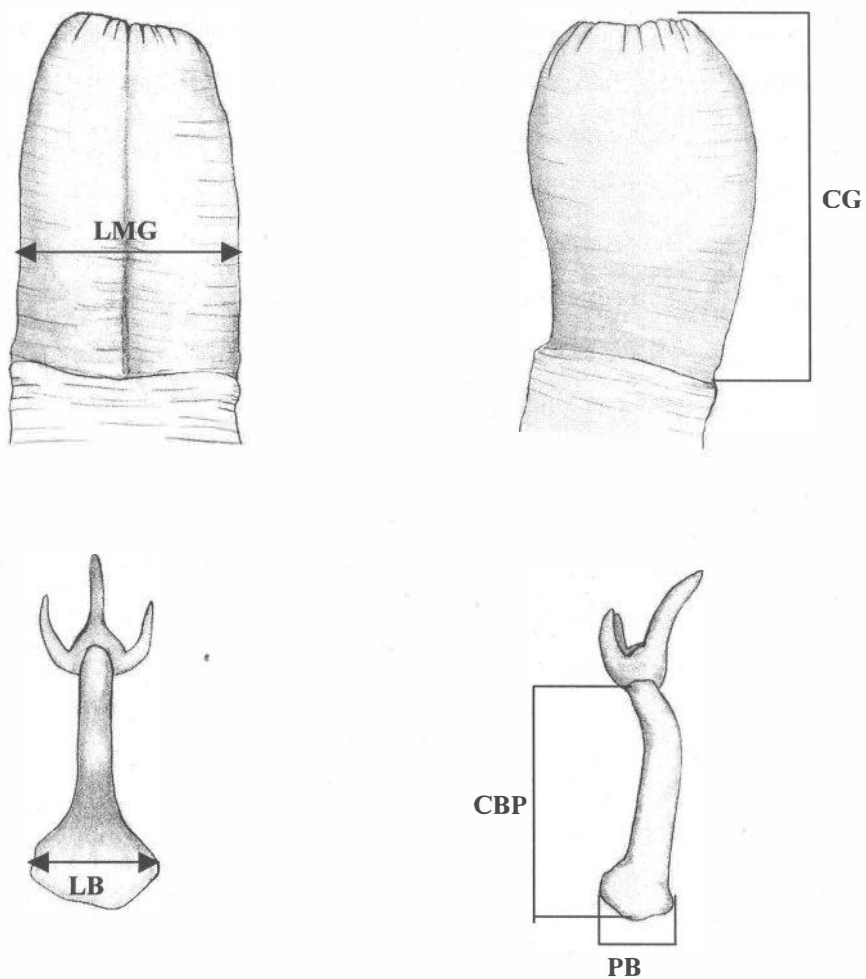


Figura 1.4. Aspecto externo dorsal e lateral da glândula e vistas dorsal e lateral do báculo de *Oxymycterus* ilustrando as medidas utilizadas.

1.2.3 ANÁLISES PREPARATÓRIAS

Premissas das Análises Multivariadas

A validade de inferências estatísticas sobre os parâmetros populacionais a partir de amostras coletadas na natureza depende de duas premissas básicas relacionadas a uma amostragem aleatória de indivíduos (Sokal & Rohlf, 1995). A premissa de normalidade dos dados assume que a distribuição de valores de uma variável se ajusta a uma distribuição normal, enquanto que a premissa de homoscedasticidade considera que as variáveis devem apresentar variâncias homogêneas entre os grupos. A violação destas premissas não impede a realização das análises multivariadas, entretanto, compromete a confiabilidade das inferências estatísticas realizadas a partir delas para se testar hipóteses (Manly, 1994; Neff & Marcus, 1980).

O teste de Kolmogorov-Smirnov (Sokal & Rohlf, 1995) foi usado para testar a hipótese nula de ajuste da distribuição dos caracteres log-transformados observada à normalidade dentro de cada uma das 14 amostras. Os resultados mostraram que todas as amostras apresentam distribuições normais para todos os 20 caracteres ($p > 0,05$), correspondendo à premissa de normalidade.

O teste de Levene foi realizado para se testar a hipótese nula de homogeneidade de variâncias entre as 14 amostras. Os 20 caracteres log-transformados foram então examinados univariadamente. Os resultados deste teste indicaram uma heterogeneidade de variâncias significativa para oito caracteres craniométricos ($p < 0,05$). Dentre eles estão o comprimento do tubo nasal (CTN), comprimento da série molar (CMO), comprimento (CIP) e largura (LIP) do interparietal e profundidade da caixa craniana (PCA).

Devido ao desajuste dos dados à premissa de homoscedasticidade, todas as análises multivariadas foram conduzidas combinadas com procedimentos de replicação por *bootstrap*, re-estimando os parâmetros estatísticos a partir da re-amostragem dos dados originais (Efron & Tibshirani, 1993). As distribuições empíricas produzidas por *bootstrap* formaram a base para a obtenção de intervalos de 95% confiança para as estatísticas envolvidas nas análises, possibilitando o teste das hipóteses de forma independente de modelos teóricos de distribuição de probabilidades. Estes intervalos de confiança permitiram também a ponderação na interpretação de certos parâmetros das

análises multivariadas, em vista da amplitude de variação apresentada por estes, além de subsidiarem a obtenção de elipses de 95% de confiança para os centróides de amostras reduzidas (Zuben et al., 1998).

Dimorfismo sexual

A ocorrência de dimorfismo sexual em caracteres cranianos e externos nas maiores amostras estudadas não foi aparente. No entanto, uma análise de variância multivariada (MANOVA) foi realizada para se testar a hipótese nula de ausência de dimorfismo sexual secundário nos 20 caracteres craniométricos. As distribuições teóricas para determinação da significância das estatísticas observadas foram obtidas através de 1000 amostragens aleatórias dos dados originais, com o objetivo de evitar a tendenciosidade nas inferências estatísticas (estimativa da significância do teste). Os testes foram implementados considerando as sete maiores amostras populacionais com números representativos de machos e fêmeas (“arro”, “ilha”, “pret”, “torn”, “ubat”, “vent” e “verm”). Os resultados da análise encontram-se resumidos na Tabela 1.5.

Tabela 1.5. Resultados da análise de variância multivariada (MANOVA) para análise de dimorfismos sexuais; estatísticas e graus de significância baseados nas distribuições teóricas obtidas por meio 1000 replicações de bootstrap: valores de F e grau de significância a 5%. Veja abreviações das amostras na Tabela 1.3.

Amostra	F-calculado	Valor de p ($\alpha=0,05$)
arro (Mar Del Plata, Buenos Aires)	0,50	0,82
ilha (Ilha Grande, RJ)	12,04	0,51
pret (forma escura de Viçosa, MG)	0,46	0,58
torn (Tornquist, Buenos Aires)	23,37	0,39
ubat (Ubatuba, SP)	1,63	0,23
vent (Sierra de laVentana, Buenos Aires)	1,18	0,46
verm (forma avermelhada de Viçosa, MG)	0,38	0,78

Machos e fêmeas não diferiram significativamente nos 20 caracteres morfométricos nas comparações ao longo das cinco maiores amostras (valores de $p>0,05$). Portanto, machos e fêmeas foram tratados sem discriminação em uma mesma amostra populacional nas análises morfométricas seguintes.

1.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

1.3.1 MORFOMETRIA MULTIVARIADA

Variabilidade Morfométrica Associada ao Fator Geral de Tamanho

Componentes principais foram calculados com o objetivo de se explorar os padrões de variação nos fatores genéricos de tamanho e forma ao longo das 14 amostras grandes. A representação individual dos escores em relação aos dois primeiros componentes e os vetores de correlação entre os caracteres e os respectivos componentes encontram-se na Figura 1.5.

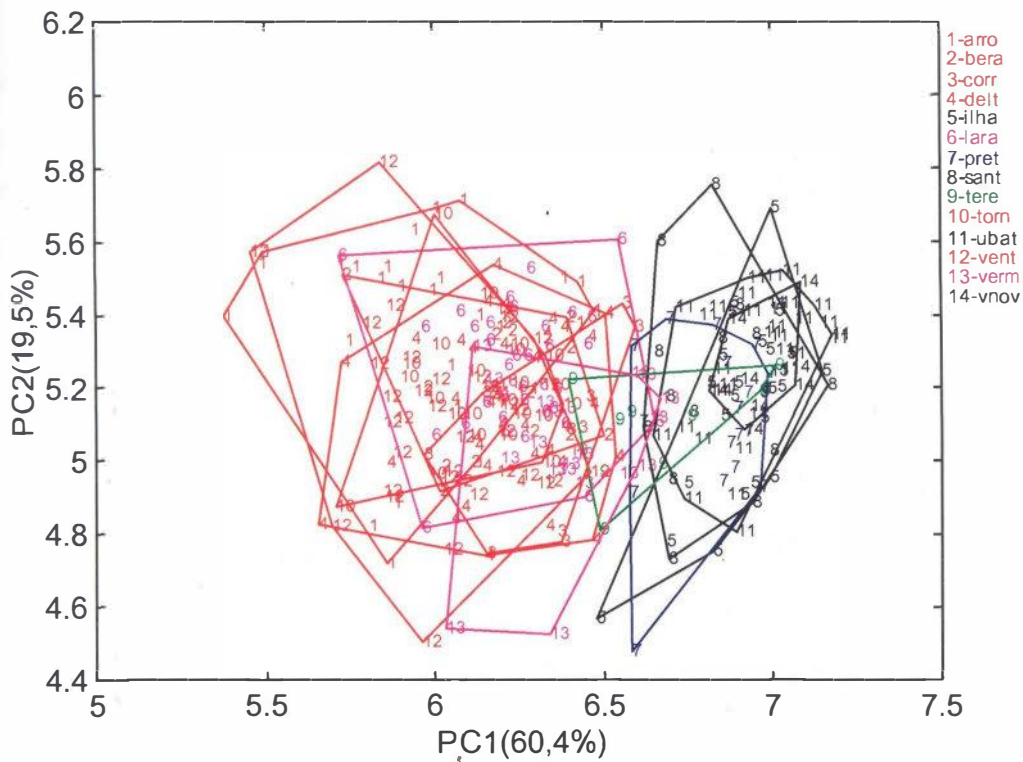
O primeiro componente principal (PC1) abrange aproximadamente 60% da variabilidade total apresentada pela matriz de variância-covariância de todas as amostras. Todos os 20 caracteres encontram-se positivamente correlacionados com este componente, portanto, corroborando a interpretação do PC1 como um eixo de variação no fator geral de tamanho. Desta forma, a maior parte da variabilidade morfométrica (60%) nas amostras de *Oxymycterus* pode ser atribuída ao fator geral de tamanho e a variabilidade restante, representada pelos demais componentes, como expressões da variação na forma. O primeiro e segundo componentes principais juntos explicam aproximadamente 80% da variabilidade craniométrica (Figura 1.5).

Um padrão de variação das amostras em relação ao fator tamanho pode ser visualizado ao longo do PC1. As amostras do sudeste brasileiro, compreendendo o grupo *dasytrichus* (em preto) e a forma escura de Viçosa (“pret” em azul), diferenciam-se dos representantes do grupo *rufus* (vermelho) e da forma avermelhada (“verm” em rosa) por possuírem maiores dimensões cranianas em geral. A amostra “tere” permanece intermediária preenchendo o intervalo entre amostras representantes dos grupos *dasytrichus* e *rufus*. Já o segundo componente não fornece padrões de segregação claros para as amostras.

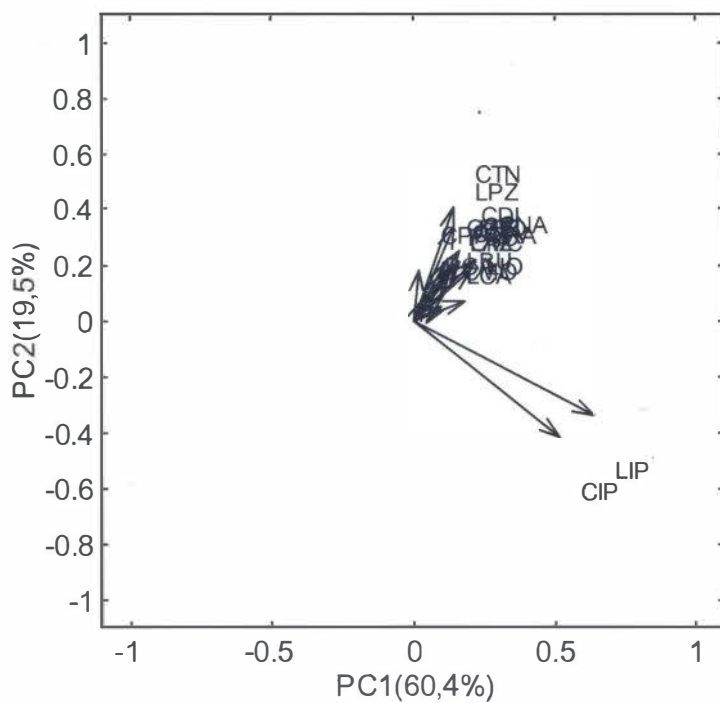
Para testar a significância da correlação entre os caracteres e os componentes, coeficientes de correlação de Pearson (r) foram obtidos. Com exceção do comprimento da ponte palatal (CPP) ($r = 0,097$ e $P=0,08$), todos os demais caracteres foram significativamente correlacionados com o primeiro componente principal ($p<0,01$). Os

caracteres CNA ($r = 0,8283$), LRA ($r = 0,803$), LIP ($r = 0,9105$), CIP ($r = 0,826$) e LIO ($r = 0,8214$) apresentaram maior correlação significativa com o fator tamanho, enquanto que os caracteres CTN ($r = 0,379$), LPZ ($r = 0,5004$) e PCA ($r = 0,3328$) foram menos correlacionados com este fator apesar de serem significantes.

Uma segunda Análise de Componentes Principais, onde as médias das variáveis de todos os grupos foram centradas em zero, foi realizada eliminando-se o fator interpopulacional relacionado ao tamanho. A variabilidade abrangida pelo primeiro componente principal, agora representando somente o fator intrapopulacional de tamanho, corresponde a 38,24% da variabilidade intrapopulacional acumulada de todas as amostras. A magnitude deste valor demonstra que mais da metade da variabilidade abrangida pelo primeiro componente é relacionada a fatores de variação intrapopulacional relacionados ao tamanho, portanto, sustentando o uso de um método de análise que possibilite corrigir a influência do fator de tamanho intrapopulacional.



a



b

Figura 1.5. Análise de Componentes Principais. (a) Representação dos escores individuais de 14 amostras populacionais de *Oxymycterus* em relação ao primeiro (PC1) e segundo (PC2) componentes principais. Os valores entre parênteses correspondem à porcentagem da variabilidade total contida em cada componente. (b) Vetores de correlação entre os caracteres craniométricos e os componentes principais PC1 e PC2.

Análise Canônica Discriminante Independente-do-tamanho

A Análise Discriminante Canônica Independente-do-tamanho revelou a existência de três grupos bem definidos e separados no espaço definido pelas duas primeiras funções discriminantes (SDF1 e SDF2) que explicam aproximadamente 80% da variabilidade morfométrica não-relacionada ao tamanho intrapopulacional. Três grandes grupos de amostras podem ser visualizados na representação dos escores em relação aos dois maiores eixos discriminantes (SDF1 e SDF2) na Figura 1.6a.

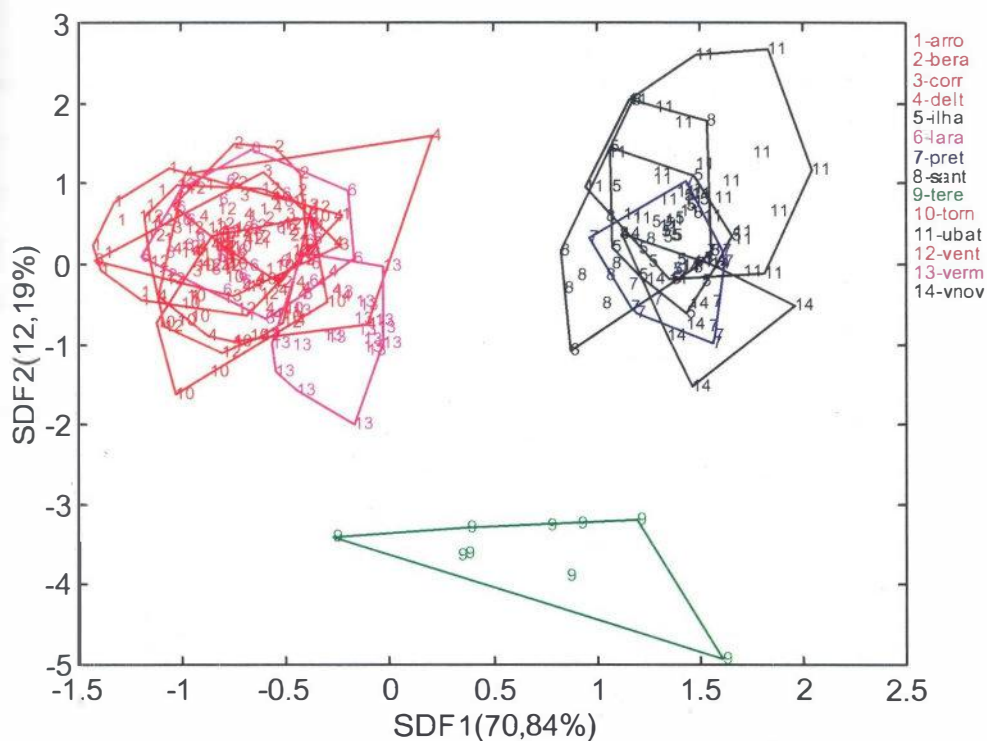
Um primeiro grupo é constituído por quatro amostras populacionais do sudeste brasileiro representantes do complexo *dasytrichus* (“ilha”, “ubat”, “sant” e “vnov”) e pela forma escura de Viçosa, Minas Gerais (“pret”). Este grupo diferencia-se dos outros dois por apresentar os maiores valores relativos para todos os 20 caracteres, indicando o fator tamanho como causa principal da divergência do grupo *dasytrichus* (Figura 1.6b). Este fator intergrupar de tamanho se expressa alometricamente, uma vez que os caracteres craniodentários expressam diferentes magnitudes de correlações significativas com o eixo SDF1. Todos os caracteres apresentaram-se significativamente correlacionados com este eixo ($p < 0,01$), embora os caracteres relacionados com a conformação do interparietal, LIP ($r = 0,6558$) e CIP ($r = 0,5979$), junto com CNA ($r = 0,3713$) e LIO ($r = 0,4199$), tenham contribuído mais para a diferenciação do grupo *dasytrichus* em relação aos demais. Portanto, os crânios agrupados neste conjunto além de serem caracterizados como integralmente maiores, apresentam interparietal maior em largura e comprimento, região interorbital mais larga e nasais comparativamente mais longos. A forma escura de Viçosa (“pret”) se sobrepõe consideravelmente às demais amostras deste grupo, em uma região do espaço multivariado densamente ocupada.

Um segundo grupo é formado por seis amostras do nordeste argentino representantes do complexo *rufus* e pela forma avermelhada de Viçosa (amostra “verm”), divergindo do grupo *dasytrichus* ao longo do primeiro eixo discriminante (SDF1). Os representantes do grupo *rufus* possuem crânios de menor tamanho em comparação a indivíduos do grupo *dasytrichus*, mas com os caracteres CIP, LIP, CNA e LIO acentuadamente menores do que os demais. Dentre as amostras argentinas, os topótipos de *Oxymycterus platensis* representados pela amostra “lara” justapõem-se aos indivíduos das demais amostras do nordeste da Argentina, não evidenciando um padrão de

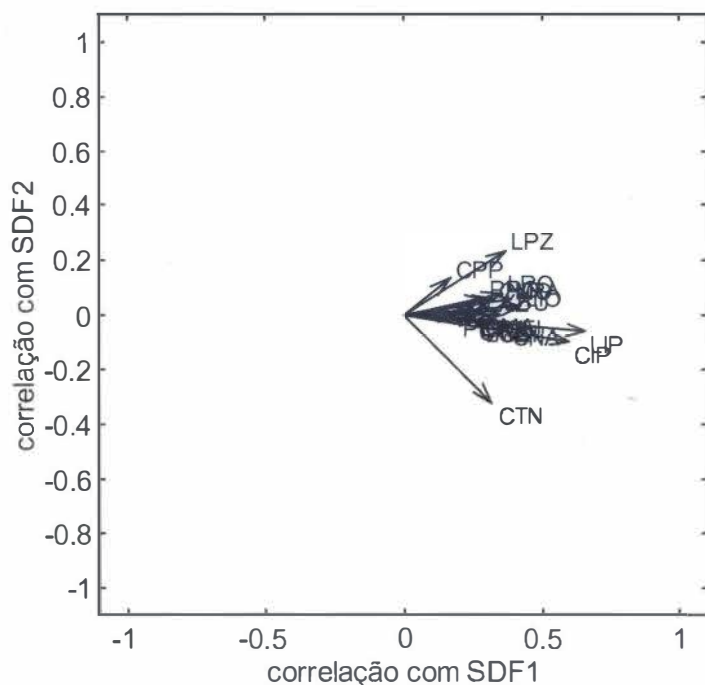
segregação claro. A população avermelhada ocupa uma posição marginal em relação às demais amostras do grupo *rufus*, apresentando uma sobreposição morfométrica mais extensiva com a amostra argentina do Delta do Paraná (“delt”).

A amostra “tere” composta de duas localidades da Serra dos Órgãos, Rio de Janeiro, integra um terceiro conjunto de indivíduos representantes do grupo *judex* bem divergente dos grupos *dasytrichus* e *rufus* ao longo de SDF1 e SDF2. Este conjunto apesar de representado por apenas 13 indivíduos consiste na amostra mais heterogênea em termos morfométricos, apresentando grande amplitude em relação ao primeiro eixo discriminante em comparação às amostras dos demais grupos. Indivíduos desta amostra diferenciam-se dos grupos *rufus* e *dasytrichus* ao longo de SDF2 por apresentar maiores valores relativos de comprimento do tubo nasal (CTN), ao longo de SDF1 e por possuir valores intermediários para os demais caracteres, sendo alometricamente maiores do que o grupo *rufus* e alometricamente menores do que o grupo *dasytrichus*. Em vista da heterogeneidade morfométrica exibida por este grupo, alguns indivíduos se destacaram apresentando valores tão altos para outros caracteres quanto aqueles apresentados por indivíduos do grupo *dasytrichus* (indivíduos representados na parte esquerda do polígono do grupo *judex*).

Oliveira (1998) comentou sobre a heterogeneidade morfológica de indivíduos da Serra dos Órgãos alocados ao grupo *judex*, aqui representados pela amostra “tere”. A possibilidade de existência de duas espécies não foi descartada, apesar das amostras atuais não possibilitarem um teste consistente desta hipótese. Com o objetivo de expressar a divergência apresentada pela amostra de Serra dos Órgãos dentro do complexo *judex*, Oliveira provisoriamente referiu estas formas à *O. quaestor*, descrita com base em exemplares de Roça Nova, Estado do Paraná, que, segundo ele, assemelham-se com os exemplares de Serra dos Órgãos em morfologia craniana. De qualquer forma, as duas formas simpátricas aparentemente se encontram morfometricamente dissociadas deste grupo de espécies.



a



b

Figura 1.6. Análise Canônica Discriminante independente-do-tamanho. (a) Representação dos escores individuais de todas as 14 amostras grandes em relação aos dois maiores eixos de discriminação independentes-do-tamanho (SDF1 e SDF2). (b) Vetores de correlação entre os caracteres craniométricos e os eixos de discriminação (somente vetores com coeficientes maiores que 0,3 estão nomeados).

Análises de agrupamento

As distâncias de Mahalanobis corrigidas para o efeito do tamanho foram estimadas entre as 14 amostras grandes para a construção de dendrogramas, ilustrando padrões de similaridade morfométrica. Um total de 1000 interações de *bootstrap* foi executado para estimar-se as significâncias e poderes estatísticos das distâncias ($H_0: D^2=0$). Os dendrogramas construídos pelos métodos de UPGMA e *neighbour-joining* podem ser visualizados na Figura 1.7.

O padrão de agrupamento fornecido pelo UPGMA demonstra que a forma escura de Viçosa aloca-se internamente no complexo *dasytrichus*, formando um grupo com a amostra “sant” do Espírito Santo. Um segundo grupo é formado pelas amostras “ilha” e “ubat”, provenientes de localidades costeiras dos Estados do Rio de Janeiro e São Paulo, respectivamente. A amostra “vnov” da região montanhosa do Espírito Santo permanece marginalmente relacionada aos dois grupos anteriores. A topologia interna do grupo *dasytrichus* produzida por UPGMA difere sutilmente do padrão fornecido pelo *neighbour-joining*, sendo que neste último, a única mudança é a ausência do agrupamento “ubat” - “ilha”, apesar do comprimento reduzido do ramo entre eles (Figura 1.7b). Esta diferença pode ser atribuída à diferença dos algoritmos na construção dos dendrogramas, sendo que no procedimento de *neighbour-joining*, a distância entre “ubat” e “ilha” foi reavaliada após a adição de “vnov”, provavelmente desfazendo o pareamento inicial das duas amostras costeiras.

O posicionamento apresentado pela amostra “tere” da Serra dos Órgãos nos dendrogramas de UPGMA e *neighbour-joining* corrobora seu elevado grau de divergência sugerido na análise discriminante anterior. Este grupo associa-se remotamente ao grupo *dasytrichus* nas duas topologias, apresentando grandes níveis de distância de Mahalanobis em relação a todas as amostras (53,50 – 98,68).

A topologia apresentada pelo grupo *rufus* foi a que mais variou entre os dois algoritmos implementados para construção dos dendrogramas. A amostra “delt” representante da região do Delta do Paraná agrupou-se com os topótipos de *O. platensis* (“lara”) no dendrograma de UPGMA, ao contrário da proximidade exibida em relação à amostra “torn” na topologia estimada pelo *neighbour-joining*. Estas três amostras apresentaram distâncias entre si não significativas ($p>0,05$) e muito similares,

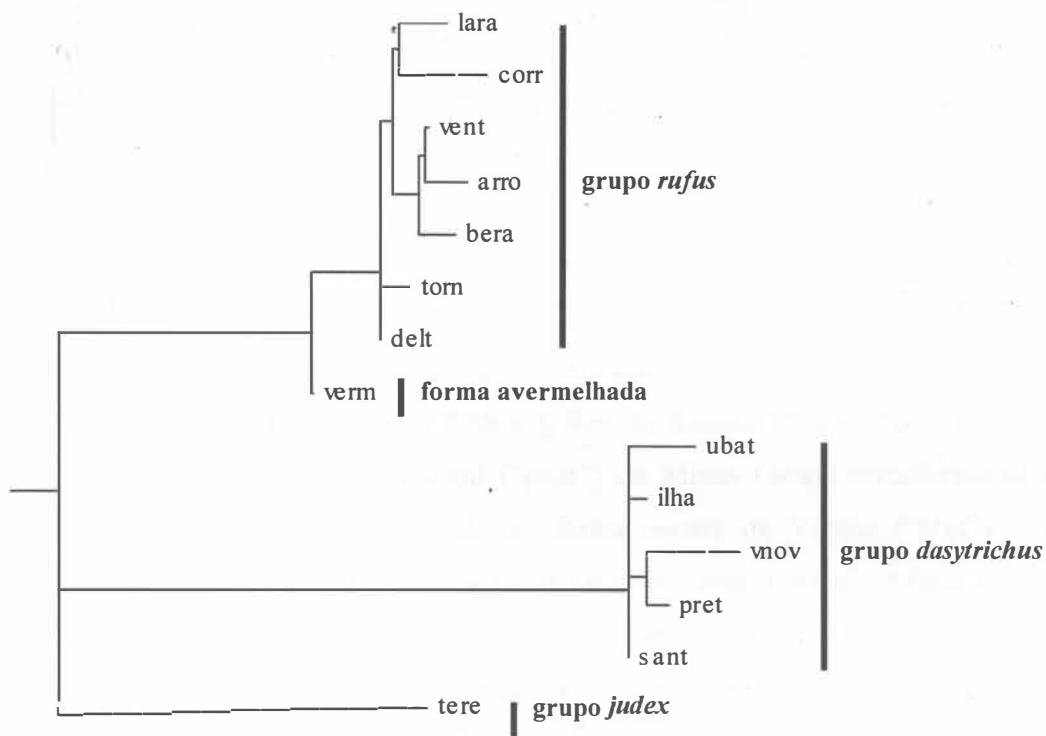
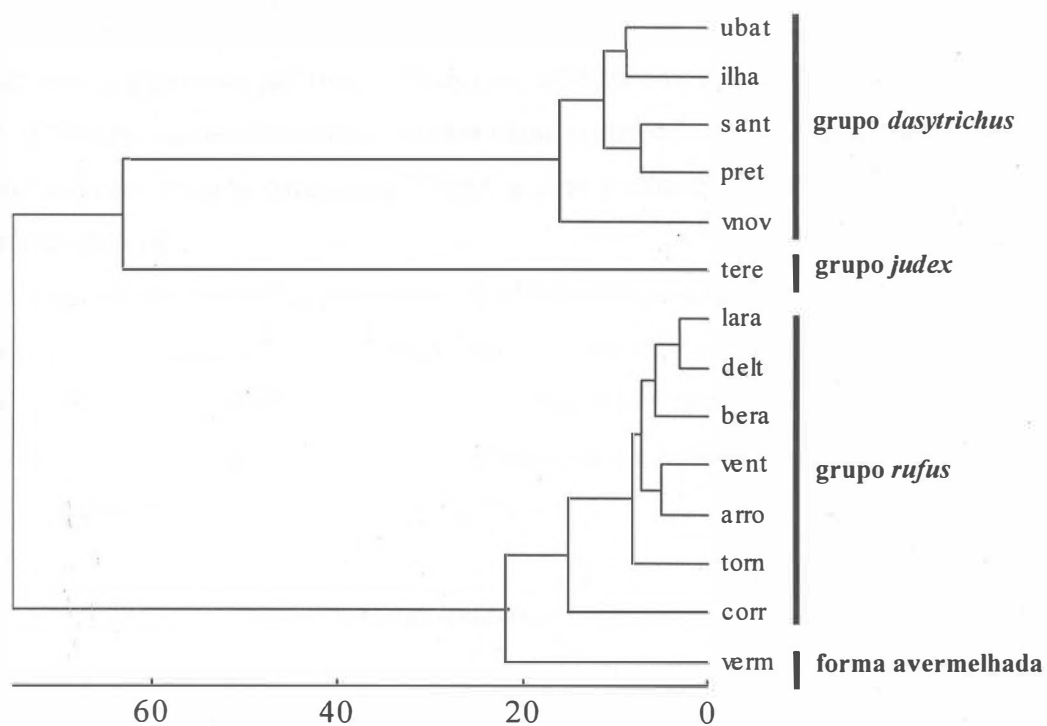


Figura 1.7. Dendrogramas construídos por UPGMA e *neighbour-joining* ilustrando os padrões de similaridade morfológica inferidos a partir das Distâncias de Mahalanobis. Acrônimos estão na Tabela 1.3.

dificultando a determinação de afinidades específicas entre elas. A posição da amostra “corr” da Província de Corrientes também varia, agrupando-se com amostras do sudeste da Província de Buenos Aires no UPGMA e com a amostra “lara” no dendrograma de *neighbour-joining*.

Padrões evidenciados pelas duas topologias foram o agrupamento das amostras do sudeste da Província de Buenos Aires (“vent”, “bera” e “arro”) a associação marginal da forma avermelhada de Viçosa (“verm”) a amostras argentinas. As distâncias de Mahalanobis apresentadas entre “verm” e as demais amostras do grupo *rufus* variaram significativamente de 17,68 a 31,05 ($p < 0,01$).

Classificação a posteriori das amostras pequenas

As 11 amostras de tamanho reduzido ($n < 10$ ind.) foram probabilisticamente alocadas às 14 grandes amostras por meio dos valores relativos de distância de Mahalanobis. As probabilidades de alocação obtidas por 1000 replicações são mostradas na Tabela 1.6 abaixo.

As amostras reduzidas das Províncias de Córdoba (“cord”) e de San Luis (sanl) alocaram-se à grande amostra de representantes de *O. platensis* (“lara”), dentro do grupo *rufus* (100%). Os topótipos de *O. rufus* (“rios”) alocaram-se preferencialmente à amostra “torn”, da Província de Buenos Aires, e surpreendentemente uma amostra do sudeste do Brasil (“itac”) se mostrou fortemente associada (100%) à forma avermelhada de Viçosa (“verm”). As amostras do sudeste (“vent” e “arro”) e do interior (“bera”) da Província de Buenos Aires permaneceram sem amostras a elas alocadas.

Amostras dos Estados da Bahia (“bhia”), Rio de Janeiro (“rese”, “prti”), Goiás (“robe”) e das regiões leste (“cara”) e sul (“pass”) de Minas Gerais associaram-se à amostras do grupo *dasytrichus*, incluindo a forma escura de Viçosa (“pret”) que permaneceu associada com seis amostras de localidades de Goiás (“robe”), Minas Gerais (“cara”, “pass”), Bahia (“bhia”) e Rio de Janeiro (“prti”, “rese”). Notavelmente, a amostra “bhia” e a amostra “robe”, representantes das formas nominais *O. dasytrichus* e *O. roberti*, respectivamente, associaram-se fortemente com a forma escura de Viçosa (99-100%), deixando sua identidade taxonômica ambígua e, ao mesmo tempo, corroborando

a inclusão de ambos os nomes neste grupo de espécies, como proposto por Oliveira (1998). Nenhuma amostra foi assinalada ao grupo *judex* representado por “tere”.

Tabela 1.6. Alocações probabilísticas (%) das amostras pequenas (colunas) às amostras grandes (linhas) de acordo com os valores relativos da distância de Mahalanobis corrigida reiterados 1000 vezes (células contendo somente traços indicam probabilidade 0 de alocação).

Amostras grandes/pequenas		grupo <i>rufus</i>				grupo <i>dasytrichus</i>								Número de amostras alocadas
		cord	itac	rios	sanl	bhia	cara	cast	ouro	pass	prti	rese	robe	
grupo <i>rufus</i>	arro	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	0
	bera	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	0
	corr	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	0
	delt	--	--	23	--	--	--	--	--	--	--	--	--	0
	lara	100	--	--	100	--	--	--	--	--	--	--	--	2
	torn	--	--	77	--	--	--	--	--	--	--	--	--	1
	vent	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	0
	verm	--	100	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	1
grupo <i>dasytrichus</i>	ilha	--	--	--	--	--	--	--	--	--	11	--	--	0
	pret	--	--	--	--	99	66	--	30	97	81	100	100	6
	sant	--	--	--	--	--	14	99	02	03	--	--	--	1
	ubat	--	--	--	--	01	20	--	68	--	08	--	--	2
	vnov	--	--	--	--	--	--	01	--	--	--	--	--	0

1.3.2 MORFOLOGIA QUALITATIVA

Os padrões de variabilidade de caracteres qualitativos do crânio, genitália masculina e morfologia externa das formas simpátricas de Viçosa e de representantes dos grupos *dasytrichus*, *rufus* e *judex* foram comparados com o objetivo de testar os agrupamentos morfométricos e de complementar a caracterização morfológica dos três complexos de espécies considerados.

Crânio

Oliveira (1998), caracterizando a morfologia craniana de amostras geográficas de *Oxymycterus*, destacou caracteres cranianos que teriam grande valor taxonômico no reconhecimento de grupos de espécies dentro do gênero, e que contribuem na diferenciação das formas consideradas neste estudo. A condição do septo palatino separando os dois forames incisivos foi descrita para amostras argentinas do grupo *rufus* como estreita e extremamente delicada, de modo que a superfície ventral da porção maxilar do septo conforma-se a um aspecto de “quilha” (Oliveira, 1998: 89). Esta condição é evidente nos exemplares da forma avermelhada de Viçosa, enquanto que em exemplares da forma escura, este septo apresenta-se relativamente mais largo, formando uma superfície ventral mais ampla na porção maxilar (Figura 1.8). A condição apresentada pela forma escura se assemelha àquela descrita para o grupo *dasytrichus*, corroborando a alocação desta amostra a este grupo de espécies. Representantes do grupo *judex* apresentam septo palatino também estreito, mas em condição menos delicada do que aquela exibida pelo grupo *rufus*, sendo que a parte maxilar do septo não exibe um aspecto “quilhado” (Figura 1.8).

Além do septo palatino, o interparietal apresentou-se consideravelmente variável entre alguns grupos de espécies de *Oxymycterus* (Oliveira, 1998). As modificações básicas envolvidas na diferenciação do interparietal são relacionadas às alterações na área abrangida por esta estrutura, evidenciáveis pela variação no comprimento mediano e largura máxima. Representantes da forma avermelhada apresentam um interparietal reduzido em largura e comprimento possuindo um aspecto triangular, semelhante às amostras argentinas (Figura 1.9). Em contraposição, indivíduos da forma escura possuem

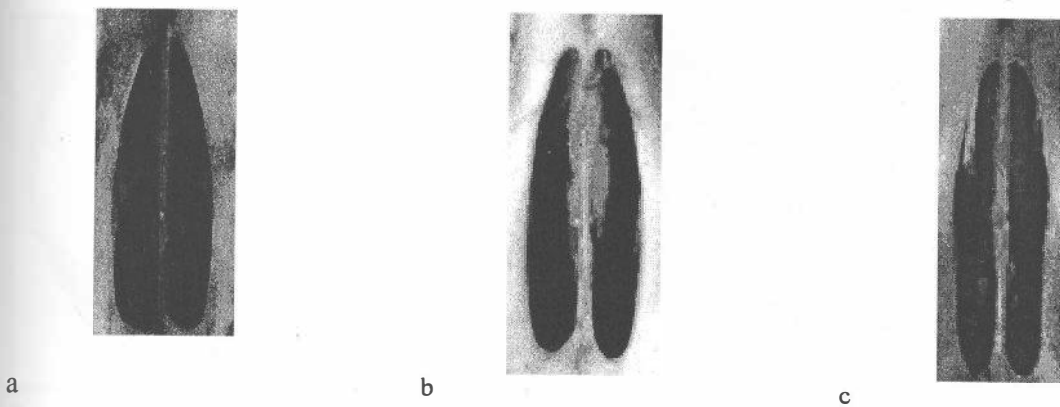
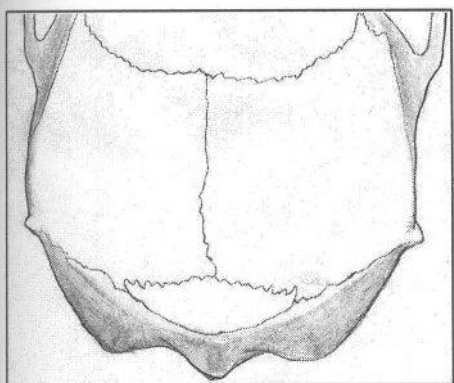


Figura 1.8. Vista ventral do forâmen incisivo evidenciando as condições do septo palatino de representantes das formas (a) avermelhada e (b) escura de Viçosa, Minas Gerais, e do (c) grupo *judex*.

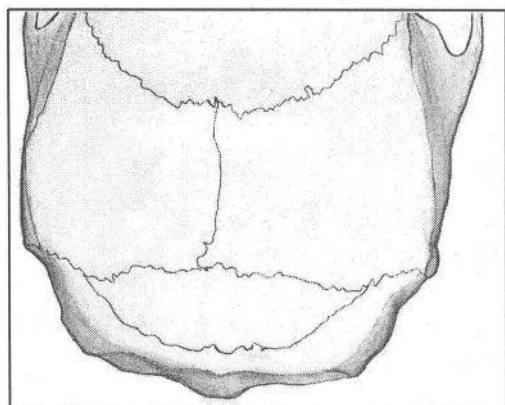
interparietais mais expandidos principalmente no eixo latero-lateral, alguns apresentando o limite posterior do interparietal curvado, gerando um aspecto semilunar. A expansão antero-posterior do interparietal é variável nas amostras de *dasytrichus*. No entanto, indivíduos da forma escura de Viçosa possuem frequências altas de interparietais achatados antero-posteriormente e expandidos lateralmente. Os representantes do grupo *judex* apresentam um interparietal de morfologia semelhante ao grupo *dasytrichus*.

Os nasais do gênero *Oxymycterus* constituem estruturas de morfologia peculiar dentre os roedores sigmodontíneos. Geralmente, os nasais de indivíduos das amostras examinadas são bastante projetados anteriormente, ultrapassando o limite anterior da face lateral do pré-maxilar. Na porção terminal dos nasais, em vista lateral, uma leve inflexão no nível dos incisivos produz o aspecto de “trompete” enfatizado por vários autores em caracterizações do gênero (ex.: Azara, 1802; Hershkovitz, 1994; Reig, 1987). No entanto, distintos morfótipos da porção terminal dos nasais resultam da variação na intensidade desta inflexão (Figuras 1.10).

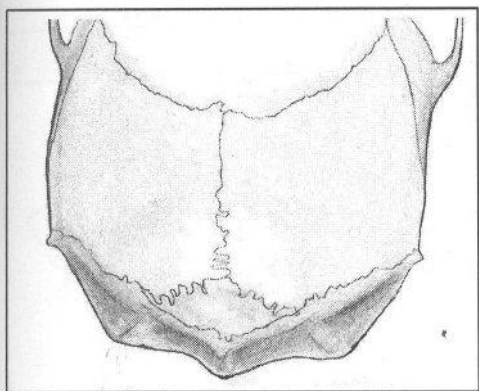
A região rostral dos indivíduos da forma avermelhada de Viçosa é caracterizada por um nasal pouco curvado dorsalmente, com uma inflexão sutil, onde o perfil dorsal



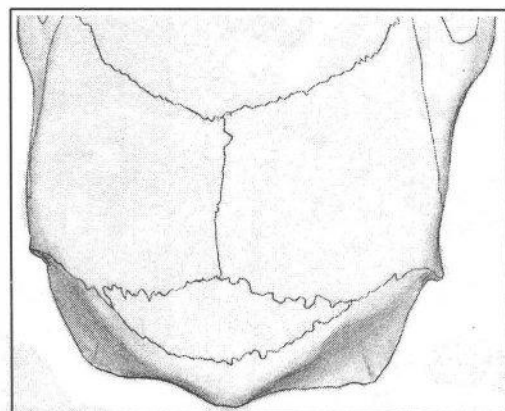
a



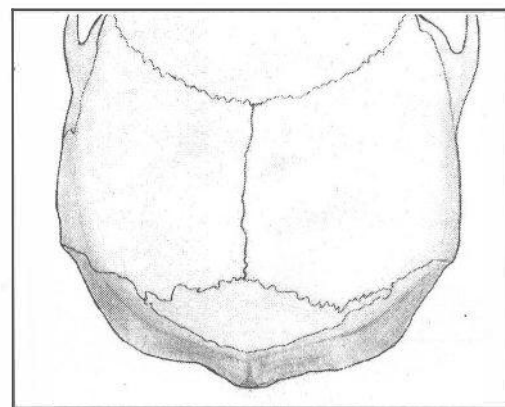
b



c

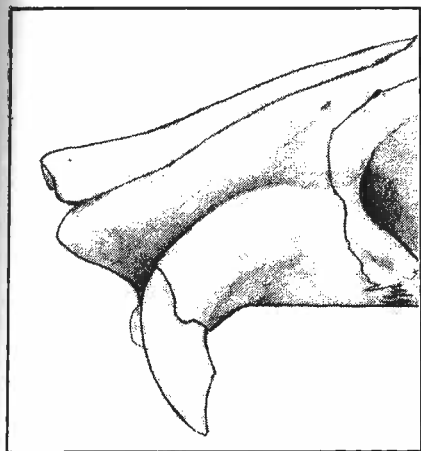


d

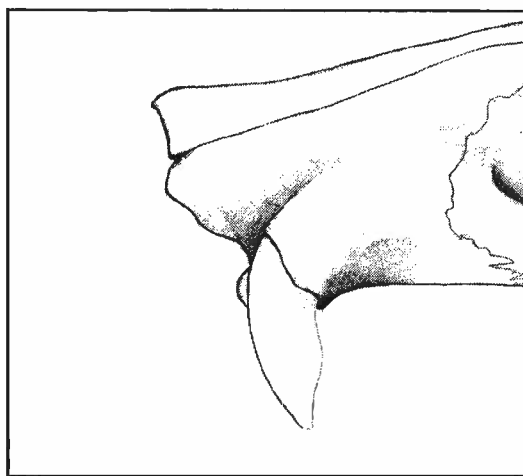


e

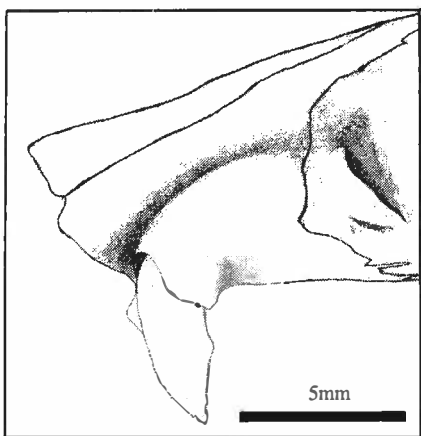
Figura 1.9. Vista dorsal da caixa craniana destacando a variação na morfologia do interparietal das formas simpátricas de Viçosa, Minas Gerais e de representantes dos grupos de espécies *rufus*, *dasytrichus* e *judex*: (a) forma avermelhada de Viçosa, MG (MZUFV740); (b) forma escura de Viçosa, MG (MZUFV581); (c) *O. gr. rufus* de Punta Lara, Buenos Aires, ("lara") (MN33672); (d) *O. gr. dasytrichus* (MN5285); (e) *O. gr. judex*.(MN2770).



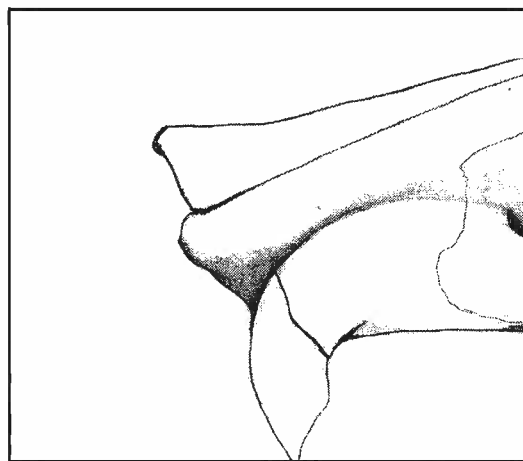
a



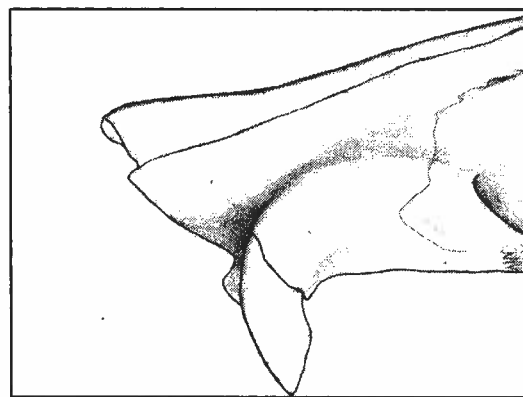
b



c

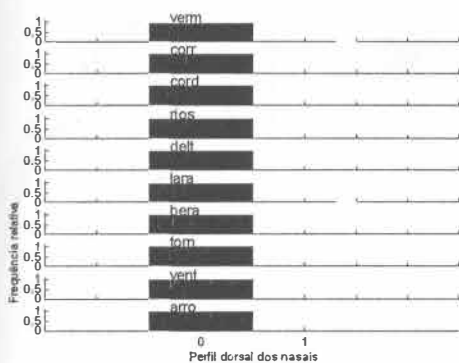


d

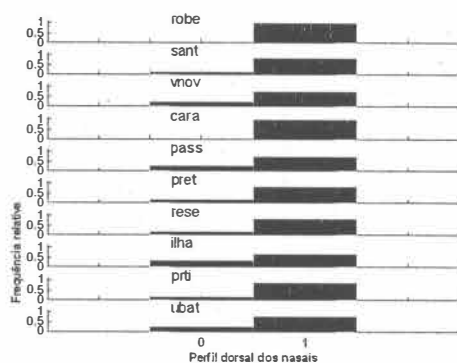


e

Figura 1.10. Vista lateral da região rostral de representantes das formas simpátricas de Viçosa, Minas Gerais, e dos grupos de espécies *rufus*, *dasytrichus* e *judex*: (a) forma avermelhada de Viçosa, MG ("verm") (MZUFV741); (b) forma escura de Viçosa, MG ("pret") (MZUFV659); (c) *Oxymycterus* gr. *rufus* de Punta Lara, Buenos Aires ("lara") (MN33671); (d) *Oxymycterus* gr. *dasytrichus* de Ubatuba, SP ("ubat") (MN24421); (e) *Oxymycterus* gr. *judex* de Teresópolis, Rio de Janeiro ("tere") (LMP 078).



a.



b.

Figura 1.9. Frequências relativas dos estados do perfil dorsal dos nasais das amostras populacionais dos grupos de espécies (a) *rufus* e (b) *dasytrichus*: 0 – nasais curvados e 1 – nasais retilíneos (veja texto e Figura 1.8 para definição do caráter).

dos nasais não acompanha o plano horizontal da região diastemal (Figura 1.10). Já indivíduos da forma escura possuem uma expansão terminal dos nasais relativamente mais acentuada, sendo que o perfil dorsal terminal dos nasais e o plano horizontal a região diastemal prolongam-se anteriormente em um mesmo ângulo (Figura 1.10).

A morfologia da região rostral apresentada pela forma avermelhada de Viçosa é repetida por indivíduos da região nordeste da Argentina (Figura 1.10c), não apresentando modificações consideráveis (Figura 1.11) e sendo aparentemente bem fixada em populações do grupo *rufus*. As amostras do grupo *dasytrichus* apresentam uma variabilidade maior neste caráter, sendo que condições de nasais pouco expandidos podem ser vistas em alguns indivíduos de amostras do Espírito Santo, Rio de Janeiro e São Paulo e Minas Gerais (Figura 1.11).

Os indivíduos da amostra “tere” apresentam condições semelhantes a representantes do grupo *dasytrichus*, com nasais variando de expandidos a moderadamente expandidos (Figura 1.11). No entanto, a morfologia rostral de “tere” difere das demais amostras pela projeção anterior bem acentuada dos nasais integrados com o pré-maxilar formando um tubo nasal mais pronunciado (Figura 1.10e).

O osso lacrimal de espécimes dos três grupos de espécies variou no tamanho e magnitude de expansão lateral (Figura 1.12). A forma avermelhada de Viçosa e as amostras argentinas exibiram um lacrimal pouco expandido lateralmente, acompanhando

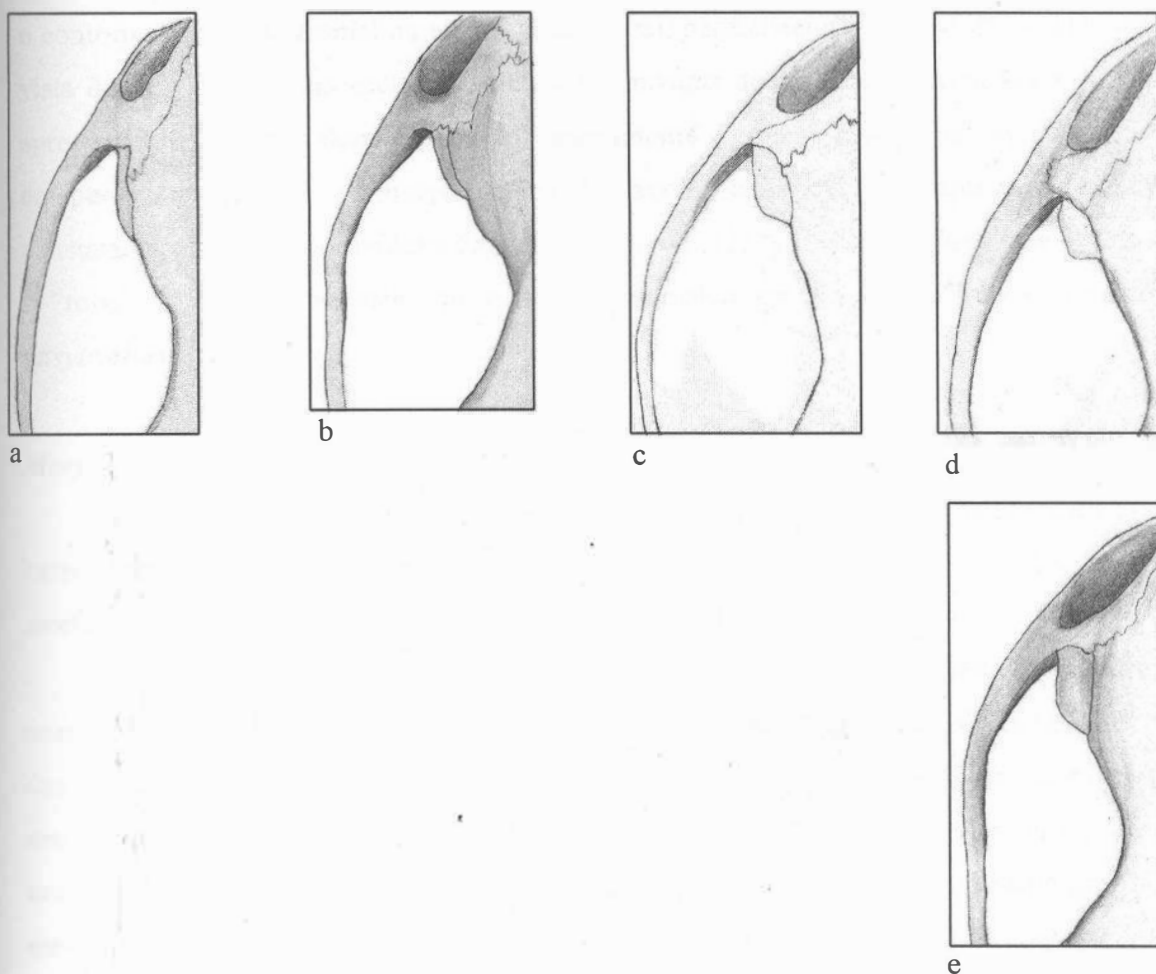


Figura 1.12. Vista dorsal da região interorbital destacando a variação na morfologia do lacrimal das formas simpátricas de Viçosa, Minas Gerais e de representantes dos grupos de espécies *rufus*, *dasytrichus* e *judex*: (a) *O. gr. rufus*; (b) forma avermelhada de Viçosa, MG; (c) forma escura de Viçosa, MG; (d) *O. gr. dasytrichus* (e) *O. gr. judex*. Os exemplares são os mesmos da Figura 1.10.

o contorno lateral do frontal na região anterorbital, permanecendo pouco conspícuo em vista dorsal. Já a forma escura e as demais amostras dos grupos *dasytrichus* e *judex* apresentaram lacrimais bem expandidos lateralmente e conspícuos quando visualizados em perspectiva dorsal. Condições parecidas àquela exibida pelo grupo *rufus* foram constatadas em alguns indivíduos das amostras “pass” (25%), “pret” (25%), “rese” (40%) e “robe” (25%), sendo este um caráter polimórfico em populações do complexo *dasytrichus*.

Morfologia peniana

A morfologia peniana de 12 exemplares examinados apresentou variabilidade em caracteres relacionados ao aspecto externo da glândula, à forma dos processos uretrais e à morfologia dos componentes ósseo e cartilaginoso do báculo.

As amostras “verm” (n=4) e “pret” (n=3) diferem no aspecto externo da glândula, principalmente na morfologia da margem apical da cratera (Figura 1.13a, 1.13m), além das glândulas da forma escura (“pret”) (Tabela 1.7). A forma avermelhada apresenta uma margem apical pouco crenada, um padrão semelhante ao de representantes do grupo *rufus* examinados (n=2) (Figura 1.13q). A forma escura possui uma margem apical crenada, marcada por pequenas fissuras concentradas nas faces dorsal e ventral, morfologia que é compartilhada por amostras de Ilha Grande (n=3), RJ, e Ubatuba (n=2), SP, examinadas, apesar de considerável variação. Parte desta variação pode ser atribuída a um artefato de preparação, sendo que glândulas obtidas de exemplares ressecados tiveram seu aspecto original deformado durante a hidratação. Infelizmente, nenhuma glândula preservada em álcool de representantes do grupo *dasytrichus* estava disponível para análise.

Tabela 1.7. Médias de medidas fâlicas e baculares de espécimens representantes das formas simpátricas e dos grupos *rufus*, *dasytrichus* e *judex*. Veja caracteres na Figura 1.4.

Caracteres	forma avermelhada (n=3)	grupo <i>rufus</i> (n=2)	forma escura (n=3)	grupo <i>dasytrichus</i> (n=5)	grupo <i>judex</i> (n=3)
CBP	4,06	4,09	5,26	5,99	4,98
LR	0,54	0,41	0,65	0,56	0,41
LB	2,29	2,82	3,13	2,86	2,82
CG	4,59	4,3	5,74	6,27	7,3
LMG	4,03	4,72	3,74	4,18	4,72

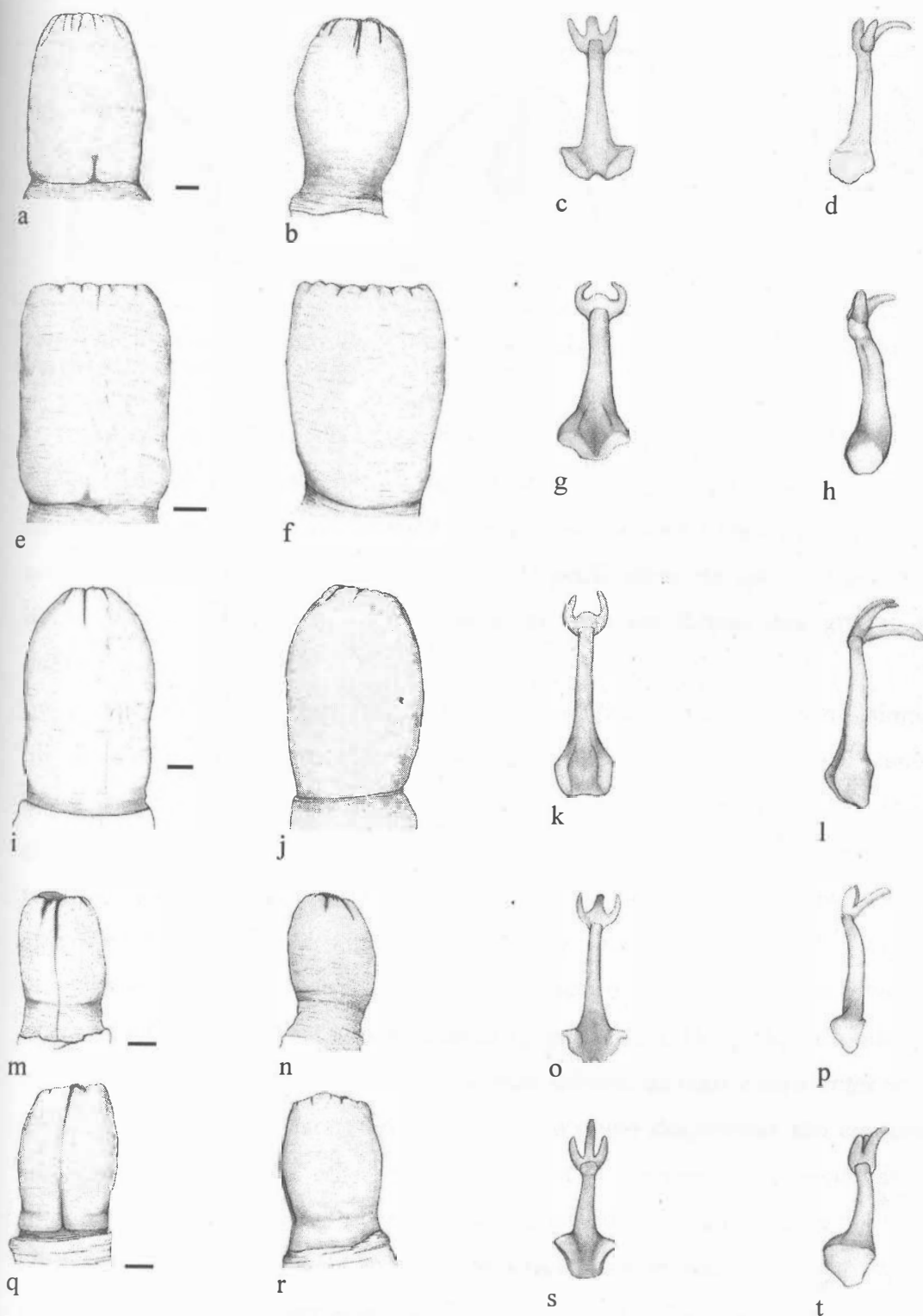


Figura 1.12. Aspectos dorsal e lateral das glândulas e báculos de representantes da forma escura de Viçosa (MZUFV 715; a-d), do grupo *dasytrichus* (MN8194; e-h), do grupo *judex* (MN48083; i-l), da forma avermelhada de Viçosa (PRG174, PRG 18B; m-p) e do grupo *rufus* (BAL 0005011; q-t). Barra=1mm.

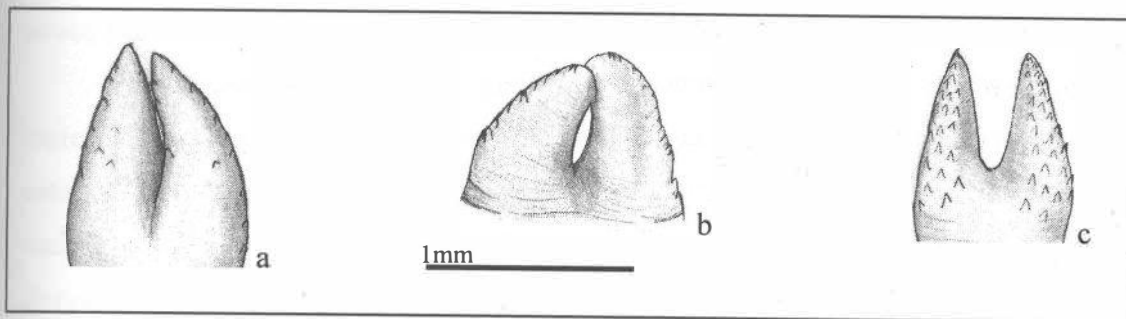


Figura 1.13. Vista ventral dos processos uretrais de representantes dos grupos (a) *dasytrichus* (MN8194), (b) *rufus* (BAL0005011) e (c) *judex* (MN48083).

A amostra “tere” diverge das demais amostras na condição apresentada pela margem apical do corpo externo da glândula. A margem apical de indivíduos desta amostra apresentou-se pouco crenada principalmente em vista dorsal, possuindo de duas a quatro pequenas fissuras (Figura 1.13i). O perfil lateral do ápice do pênis também difere, apresentando-se mais convergente do que em formas dos grupos *rufus* e *dasytrichus*.

Diferenças marcantes foram constatadas no báculo das duas formas simpátricas, diferindo na curvatura dorsal e na conformação da base proximal do componente ósseo desta estrutura (Figura 1.13). Representantes da forma avermelhada de Viçosa e do grupo *rufus* compartilham um báculo dorsalmente curvado, principalmente na porção terminal, o que contrasta com o aspecto retilíneo e alongado de representantes da forma escura ou do grupo *judex* (Figura 1.13). A base proximal do báculo de indivíduos do grupo *rufus* se mostrou bem pronunciada em relação a indivíduos da forma avermelhada, uma variação provavelmente ontogenética (Figura 1.13t). De qualquer modo, o baixo número de indivíduos analisados não permite inferências mais consistentes sobre esta variabilidade. Os báculos da forma escura e do grupo *dasytrichus* são em geral mais robustos do que os báculos das demais amostras e grupos de espécies analisados, diferindo entre si na região proximal, onde os côndilos da forma escura são sutilmente mais expandidos lateralmente do que os de indivíduos examinados do grupo *dasytrichus*. Os côndilos basais também se pronunciavam lateralmente na forma avermelhada e no grupo *rufus*, formando um pequeno processo lateral (“asa”) em indivíduos mais velhos. Os

indivíduos da amostra “tere” se diferenciaram desta condição apresentando côndilos pouco pronunciados tanto lateralmente quanto dorsalmente (Figura 1.131).

Os processos uretrais em geral apresentaram pouca variação sendo que os representantes do grupo *judex* foram os que mais se destacaram na conformação desta estrutura (Figura 1.14c). Os indivíduos da amostra “tere” apresentaram processos uretrais mais projetados terminalmente e alongados em relação a exemplares dos grupos *dasytrichus* e *rufus* (Figura 1.14). A papila dorsal também exibiu variabilidade reduzida na forma, tamanho e posicionamento, localizando-se sempre na base dos invólucros teciduais do dígito medial e freqüentemente ornamentada por espinhos diminutos.

Informações sobre a morfologia fálica de espécies de *Oxymycterus* são escassas na literatura. Hooper & Musser (1964) caracterizaram o gênero *Oxymycterus* descrevendo várias estruturas ósseas, cartilaginosas e moles (báculo ósseo, dígitos baculares, papilas e processos) do pênis. No entanto, o trabalho destes autores, envolveu apenas alguns exemplares de Buenos Aires, Argentina, tratados como *O. rufus*, e alguns espécimes de Puno, Peru, referidos como *O. paramensis*, e grande parte das formas da Costa Atlântica permaneceram não analisadas. De qualquer modo estes autores ressaltaram diferenças sutis nas glândes de *O. paramensis* e *O. rufus*, dentre elas o aspecto mais espinhoso dos processos uretrais da última espécie.

Oliveira (1998) baseou-se em um número maior de exemplares de 7 grupos de espécies, apesar de ter se concentrado na morfologia do báculo ósseo. O aspecto curvado do báculo de amostras argentinas foi enfatizado por Oliveira (1998) na caracterização do complexo *rufus* de espécies, e corrobora a associação da forma avermelhada com este grupo neste trabalho.

Em geral, os padrões de variação morfológica craniana e peniana foram congruentes com os agrupamentos obtidos nas análises morfométricas anteriores, revelando a amostra “tere” (*O. gr. judex*) como uma unidade mais divergente e fornecendo evidências adicionais de descontinuidade morfológica entre as formas simpátridas, principalmente em caracteres relacionados ao báculo ósseo, sugerindo o *status* de espécies biológicas para cada forma de Viçosa, Minas Gerais. Adicionalmente, os conjuntos de caracteres morfológicos analisados consistentemente sustentam a

afinidade da forma avermelhada ao grupo *rufus* de amostras argentinas e a alocação da forma escura ao grupo *dasytrichus*, o que gera implicações taxonômicas e biogeográficas.

De qualquer modo, os nomes *rufus* e *dasytrichus*, depois da revisão de Oliveira (1998), estão incluídos em grupos heterogêneos de prováveis espécies e subespécies, e a alocação das formas de Viçosa aos grupos *rufus* e *dasytrichus* não esclarece suas identidades taxonômicas específicas. Esta questão é investigada e discutida na seção de Padrões de Variação Dentro dos Grupos de Espécies adiante.

Formas do Brasil referidas como *O. rufus* por Winge e Hershkovitz.

Os conjuntos de caracteres cranianos e reprodutivos analisados nesta seção, além de apresentarem congruência na diferenciação entre as formas simpátricas de Viçosa e nas suas alocações aos grupos *dasytrichus* e *rufus*, se mostraram úteis na investigação da alocação taxonômica de exemplares de Minas Gerais e Espírito Santo, descritos e ilustrados como *O. rufus* nos trabalhos de Winge (1887) e Hershkovitz (1998).

Winge, descrevendo representantes viventes de *Oxymycterus* de Lagoa Santa, Minas Gerais, comparou-os com séries obtidas da Bahia e de localidade desconhecida do Brasil ("Brasil") associando-os a *O. rufus*. Nas ilustrações de crânios de roedores fornecidas por Winge (1887; prancha II), o crânio de um dos exemplares (Figura 1.15) possui um interparietal relativamente desenvolvido, expandido lateralmente, e antero-posteriormente achatado, condição não apresentada pela forma avermelhada ou por outras amostras do grupo *rufus* analisadas aqui, o que exclui a possibilidade deste exemplar constituir mais um integrante deste conjunto de formas. O tubo nasal é relativamente pouco desenvolvido o que sugere sua exclusão do grupo *judex* e subsequente proximidade com o grupo *dasytrichus*. A comparação entre medidas dos indivíduos examinados por Winge (1887) e das amostras dos três grupos de espécies analisados aqui, confirma a maior afinidade destes exemplares de com amostras do grupo *dasytrichus*, sendo que o comprimento da série molar (CMO) de indivíduos de Lagoa Santa e da Bahia, caráter pouco influenciado por fatores etários, apresenta valores abrangidos pelo intervalo de variação das amostras do grupo *dasytrichus* (Tabela 1.7).

Hershkovitz (1998), estudando várias formas do sudeste do Brasil, descreveu exemplares coletados na cadeia de montanhas do Parque Nacional do Caparaó (divisa

entre os Estados de Minas Gerais e Espírito Santo), associando-os tentativamente a *O. rufus*. O crânio representado por Hershkovitz (1998; fig.27), como no caso dos exemplares de Winge, não apresenta condições compartilhadas por amostras alocadas ao grupo *rufus* no presente estudo. O interparietal do exemplar do Caparaó é consideravelmente expandido lateralmente, aproximando um formato de meia-lua, o que fortalece sua associação ao grupo *dasytrichus*. Além disso, os valores de comprimento da série molar (CMO) apresentados por estes exemplares também estão incluídos dentro do intervalo de variação constatado para o grupo *dasytrichus* neste estudo (Tabela 1.7). Os exemplares mencionados por Winge (1887) e por Hershkovitz (1998), portanto, tratam-se de mais um caso de associação de amostras de *O. dasytrichus* com *O. rufus*, frequentemente expressadas na literatura taxonômica do gênero. A afinidade dos exemplares de Hershkovitz com o grupo *dasytrichus* confirma a forma avermelhada de Viçosa e os exemplares geograficamente próximos de Ouro Preto (“itac”) como os únicos representantes brasileiros do grupo *rufus* até o momento.

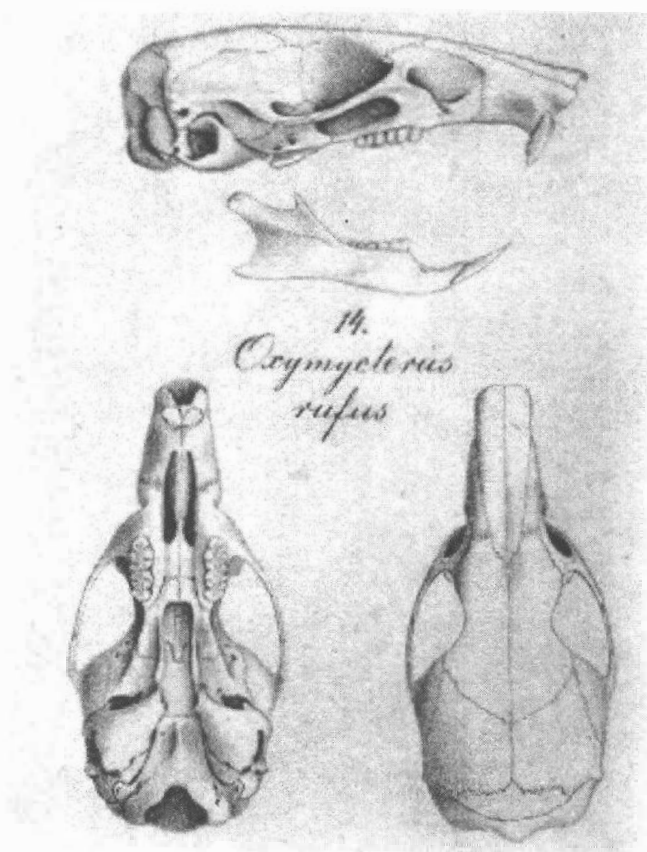


Figura 1.15. Ilustração feita por Winge (1887) do crânio e mandíbula de um indivíduo identificado como *Oxymeris rufus* coletado em Lagoa Santa, Minas Gerais.

Tabela 1.8. Comprimento da série molar (CMO) de exemplares referidos por Winge e Hershkovitz como *O. rufus* e de grandes amostras (n>10) dos grupos *dasytrichus*, *rufus* e *judex* analisadas neste estudo. Entre parênteses se encontra o tamanho amostral e o intervalo compreendido por cada amostra.

<i>Oxymycterus rufus</i> , Winge (1887) e Hershkovitz (1998)	CMO Média(Máx.-Min.)	Grupo <i>dasytrichus</i> Amostras	CMO Média(Máx.- Min.)	Grupo <i>rufus</i> Amostras	CMO Média(Máx.-Min.)	Grupo <i>judex</i> Amostras	CMO Média(Máx.-Min.)
Bahia (n=4) ¹	5,80 (5,7-6,0)	ilha (n=26)	5,63 (5,43-5,80)	arro (n=30)	5,06(4,48-5,53)	tere (n=13)	5,07 (4,76-5,49)
“Brasil” (n=1) ¹	6	pret (n=18)	5,43 (4,92-5,75)	bera (n=13)	5,19(4,89-5,53)		
Lagoa Santa (n=4) ¹	5,67 (5,5-6,0)	sant (n=16)	5,36 (5,13-5,74)	corr (n=10)	5,10(4,83-5,60)		
Caparaó (n=7) ²	5,7 (5,5-5,8)	ubat (n=33)	5,71 (5,39-6,10)	delt (n=42)	5,09(4,61-5,50)		
		vnov (n=10)	5,41 (5,08-5,72)	lara (n=36)	5,14(4,81-5,42)		
				torn (n=25)	5,01(4,76-5,21)		
				vent (n=38)	5,12(4,83-5,40)		
				verm (n=20)	5,03(4,74-5,23)		

1 – medidas dos espécimes fornecidas em Winge (1887).

2 – medidas dos espécimes fornecidas em Hershkovitz (1998).

1.3.3 PADRÕES DE VARIAÇÃO DENTRO DOS GRUPOS DE ESPÉCIES

Nesta seção, a variabilidade morfológica dentro dos grupos de espécies *dasytrichus* e *rufus* é explorada com o objetivo de identificar possíveis limites morfológicos entre populações, esclarecendo a identidade taxonômica das formas simpátricas de Viçosa dentro de seus respectivos grupos de espécies.

grupo *dasytrichus*

Uma análise canônica discriminante foi realizada incluindo somente amostras do grupo *dasytrichus*. Além das cinco amostras grandes anteriormente consideradas (“ilha”, “sant”, “pret”, “vnov” e “ubat”), seis amostras reduzidas alocadas ao grupo (Tabela de alocação), procedentes de localidades do Espírito Santo, Minas Gerais, Rio de Janeiro e Goiás (“bhia”, “cast”, “pass”, “prti”, “rese” e “robe”), foram incluídas nesta análise. A inclusão das amostras “robe”, representando *O. roberti*, e “bhia”, representando *O. dasytrichus*, objetivou avaliar a relação destas duas formas nominais com a forma escura de Viçosa e com as demais amostras do grupo *dasytrichus*. As funções discriminantes obtidas com base na análise de dez amostras do grupo *dasytrichus* foram utilizadas posteriormente para o cálculo dos escores do único representante da amostra “bhia”.

A representação dos escores individuais em relação aos dois primeiros eixos discriminantes (DF1 e DF2), que explicam 57,3% da variabilidade craniométrica total, evidenciou um padrão de segregação geográfica entre algumas amostras ao longo de DF1, apesar de moderada sobreposição (Figura 1.16a). As amostras “ilha” e “ubat”, de localização geográfica mais meridional, divergem das amostras mais setentrionais do Rio de Janeiro, Espírito Santo, Minas Gerais e Goiás. Existem sobreposições craniométricas entre “ilha-ubat” e as amostras “prti” e “sant”, que por sua vez, justapõem-se com as demais amostras do Espírito Santo e Minas Gerais examinadas, portanto, preenchendo o intervalo morfométrico entre amostras litorâneas mais austrais, boreais e interioranas do sudeste brasileiro (Figura 1.16a).

Para testar a influência de fatores etários na disposição dos escores no espaço multivariado, os indivíduos tiveram suas classes etárias identificadas. No entanto, as formas dos polígonos obtidos da análise discriminante foram mantidas para identificação

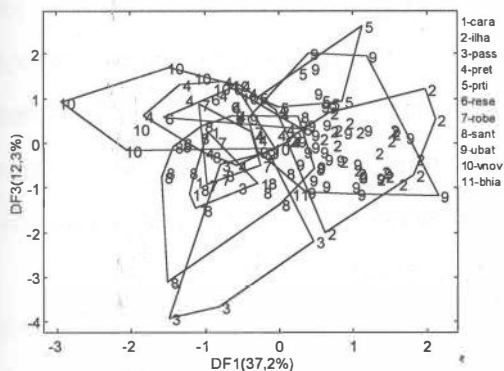
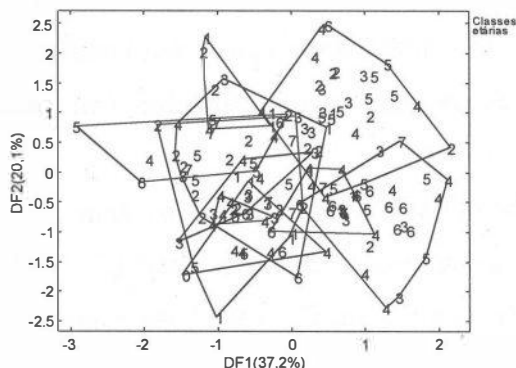
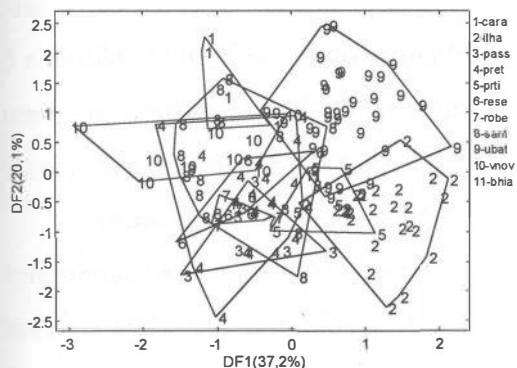


Figura 1.16. Análise discriminante dentro do grupo *dasytrichus* considerando amostras pequenas alocadas *a posteriori* (veja acrônimos nas Tabelas 1.3 e 1.4): (a) escores individuais identificados por amostra plotados em relação aos eixos de discriminação DF1 e DF2; (b) escores individuais identificados por amostra plotados em relação aos eixos de discriminação DF1 e DF3; (c) escores individuais identificados por classe etária em relação aos dois maiores eixos de discriminação para verificar a interferência da variação intrapopulacional no padrão de diferenciação observado (note que os polígonos mantêm a mesma conformação das amostras originais).

das amostras (Figuras 1.16b, d). Constatou-se que os indivíduos adultos velhos (classes 5 e 6) distribuíram-se aleatoriamente pelo espaço morfométrico, não se concentrando em nenhuma região específica do espaço multivariado, não influenciando os padrões de divergência entre as amostras.

Elipses de 95% de confiança foram obtidas para os centróides, facilitando a interpretação dos padrões de discriminação (Figuras 1.17), incluindo a representação do indivíduo da amostras “bhia” (11). As elipses das amostras “pass”, “robe”, “rese” e “sant” ainda assim sobrepõem-se extensivamente com a da forma escura (“pret”) nas representações em relação a DF1, DF2 e DF3, enquanto que as amostras “cara” e “vnov” apresentam-se um pouco mais segregadas deste conjunto ao longo de DF2. No entanto, como DF2 contribuiu pouco para a discriminação entre as amostras (12%), a segregação entre “cara” e “vnov” neste eixo não deve ser interpretada como tão acentuada e a diferenciação entre essas amostras, todavia, não é clara.

O padrão de disposição das elipses reportado nesta análise sugere uma similaridade morfométrica de *O. roberti*, representada pela amostra “robe”, com amostras do Espírito Santo (“sant”) e Minas Gerais (“pass”), incluindo a forma escura de Viçosa (“pret”). A amostra “bhia”, representando *O. dasytrichus*, se posicionou entre as amostras “prti”, “ubat”, “ilha”, “pret” e “rese”. A ausência de padrões discretos de variação morfométrica entre as amostras do litoral do Rio de Janeiro e São Paulo, Espírito Santo, Minas Gerais, Goiás e Bahia coloca o delineamento de unidades específicas como incerto com base nos caracteres morfométricos utilizados neste estudo. A interpretação mais coerente com os padrões de divergência morfométrica consiste, portanto, na constatação de um padrão de variação contínua entre as amostras ao longo do espaço geográfico.

Dentro deste contexto de contigüidade morfométrica e geográfica entre as amostras, os vetores de correlação entre os caracteres e os eixos DF1, DF2 e DF3 (Figura 1.17a, c) podem ser interpretados como tendências clinais de variação geográfica para os 20 caracteres morfométricos dentro deste grupo. A orientação de 18 dos 20

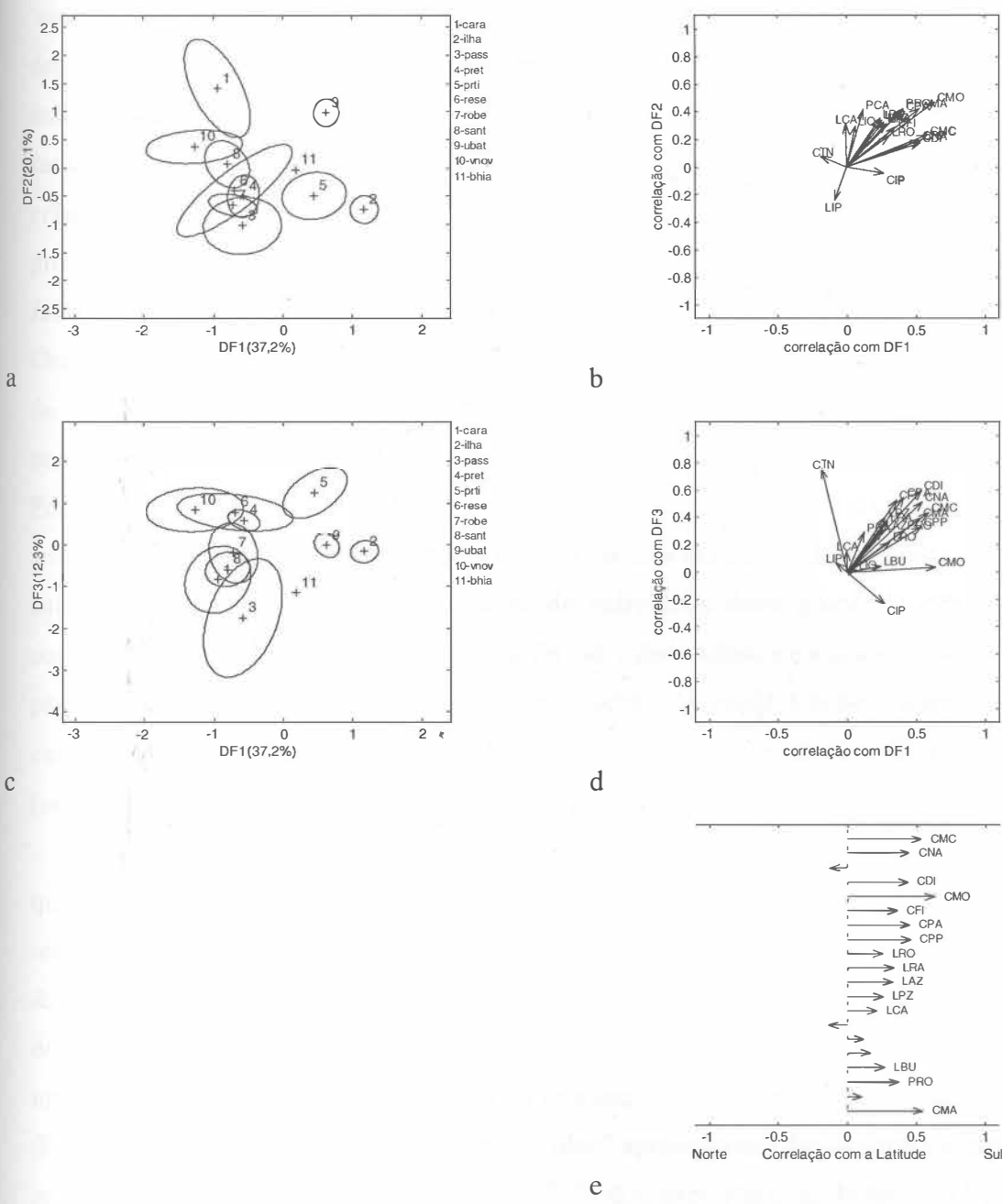


Figura 1.17. Análise discriminante dentro do grupo *dasytrichus* considerando amostras pequenas alocadas *a posteriori* (veja acronímias nas Tabelas 1.3 e 1.4). **(a)** elipses de 95% de confiança dos centróides das amostras em relação aos eixos de discriminação DF1 e DF2 e **(b)** respectivos vetores de correlação entre as variáveis e os eixos, figurados ao lado (coeficiente>0,3). **(c)** elipses de 95% de confiança dos centróides das amostras em relação aos eixos de discriminação DF1 e DF3 e **(d)** respectivos vetores de correlação entre as variáveis e os eixos discriminantes, figurados ao lado (coeficiente>0,3). **(e)** orientação dos caracteres em relação à variação latitudinal das amostras do grupo *dasytrichus*.

vetores de correlação (Figuras 1.17b, d) sugere um gradiente norte-sul de aumento geral das dimensões cranianas, com as amostras “ilha”, “prti” e “ubat” representando os maiores valores para maioria dos caracteres cranianos em relação às amostras mais setentrionais do Espírito Santo, e mais ocidentais de Minas Gerais e Goiás, que possuem crânios relativamente menores. O comprimento da série molar (CMO) apresenta-se mais pronunciado do que outros caracteres nas três amostras do sul do Estado do Rio de Janeiro e São Paulo. Dentre estas três amostras, “ilha”, representando indivíduos de Ilha Grande, apresentou os maiores crânios em relação às demais amostras. Com o objetivo de se testar a relação entre a variação craniânica e a variação latitudinal das amostras, os coeficientes de correlação de Pearson entre os caracteres e a latitude foram estimados. Foi constatado que 18 caracteres apresentaram-se positivamente correlacionados com o aumento da latitude ($p < 0,01$), portanto, corroborando a existência de um gradiente norte-sul de aumento nas dimensões cranianas de indivíduos deste grupo de espécies. A correlação de Spearman entre a ocorrência de indivíduos adultos e a latitude foi calculada para novamente testar a influência etária no padrão de variabilidade vislumbrado. A correlação não foi significativa ($R^s = 0,0612$; $p = 0,5350$), corroborando o fator geográfico (interpopulacional) como a principal fonte de variação entre as amostras.

As amostras também apresentaram variabilidade associada a caracteres qualitativos, como a ocorrência da barra do alisfenóide, uma pequena projeção óssea responsável pela separação dos forâmenes bucinador-mastigatório e oval acessório (Voss & Carleton, 1993). Quatro amostras apresentaram a condição fixa de presença da barra do alisfenóide nos dois lados, enquanto que as seis demais exibiram polimorfismos intrapopulacionais, apesar da condição de presença nos dois lados ser a mais frequente (Figura 1.18). As amostras “pass”, “prti” e “ubat” apresentaram desvios mais acentuados na distribuição deste caráter, onde 30% a 50% dos exemplares exibiram condições de ausência ou assimetria na ocorrência da barra. Oliveira (1998) também analisou a distribuição das condições apresentadas por esta estrutura em representantes do grupo *dasytrichus* e constatou padrões bem parecidos com os obtidos aqui, onde a condição de ausência da barra alisfenóide foi mais frequente em amostras meridionais do grupo (Parati, Ubatuba). Outro caráter polimórfico dentro do grupo foi a morfologia palatal, variando nas amostras “vnov”, “ubat”, “robe”, “rese” e “prti”, que apresentaram

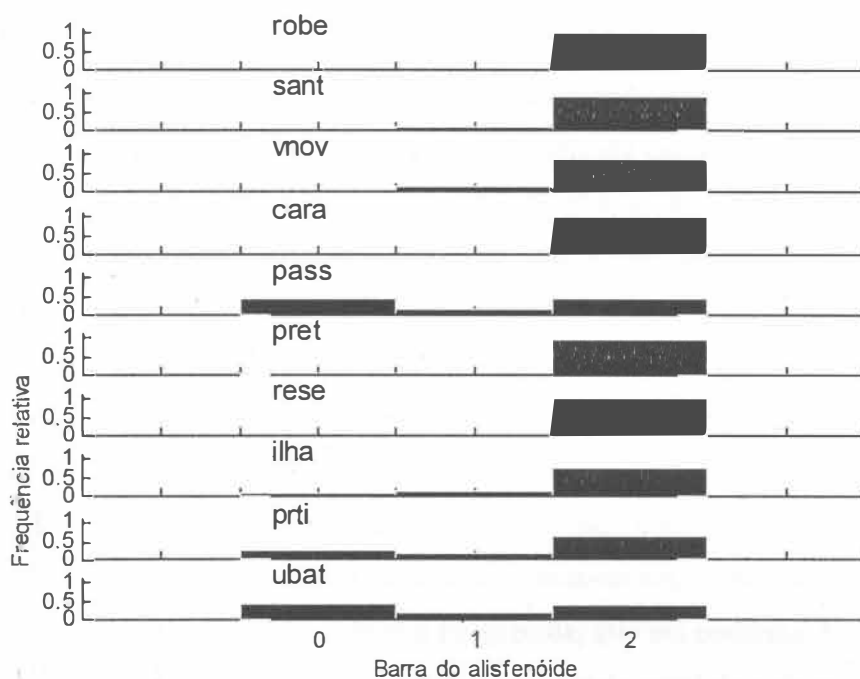


Figura 1.18. Frequências relativas das condições de presença e ausência da barra do alisfenóide em amostras populacionais do grupo *dasytrichus*: 0 – ausente nos dois lados; 1 – presente somente em um dos lados (assimetria); 2 – presente nos dois lados.

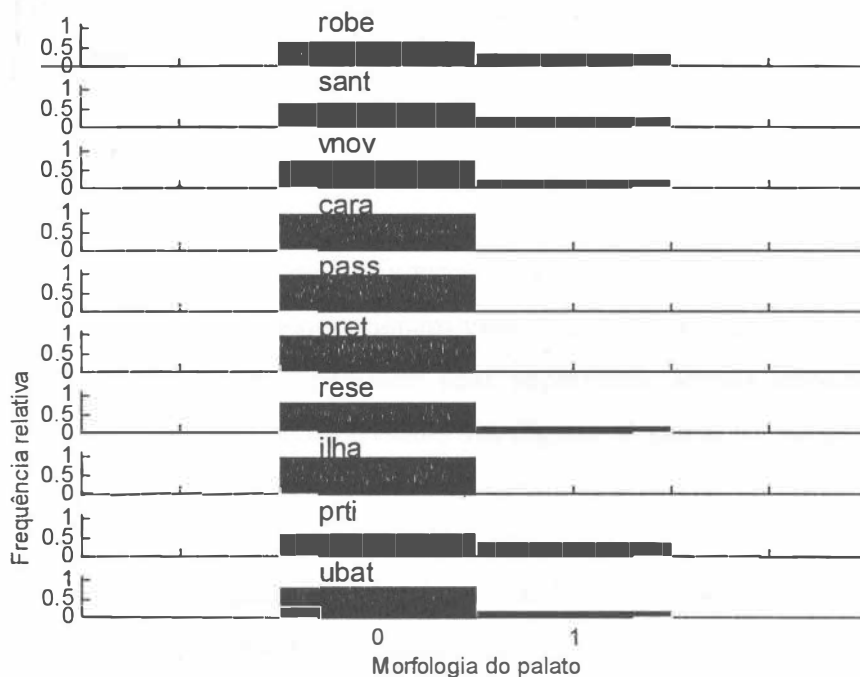


Figura 1.19. Frequências relativas de condições da morfologia palatal de amostras populacionais do grupo *dasytrichus*: 0 – palato curto com limite posterior na linha de M3; 1 – palato longo com limite posterior situado além da linha de M3.

indivíduos de palatos longos, ultrapassando a linha de M3 (Figura 1.19). As distribuições de frequência dos indivíduos de acordo com a morfologia palatal revelaram similaridades entre estas populações, corroborando o padrão evidenciado pelas análises morfométricas. A ausência de diferenças discretas (fixada em uma amostra e ausente em outra) nestes caracteres não refuta a hipótese de coesão morfológica sugerida pelas análises anteriores, apesar de evidenciar uma heterogeneidade considerável entre as amostras geográficas que se encontram conectadas por um contínuo morfológico.

O estudo de outros caracteres não relacionados, como a coloração da pelagem também revelou uma variabilidade notável na tonalidade de pêlos bandeados justificando uma breve caracterização. Os indivíduos da forma escura de Viçosa possuem a coloração geral da pelagem dorsal marrom-escura, tornando-se mais clara nas laterais do corpo. Os pêlos dorsais bandeados possuem sua base cinza-escura, uma banda subterminal amarelada e uma diminuta banda terminal enegrecida, que em combinação com os pêlos inteiramente melânicos garantem o aspecto amarronzado geral da pelagem dorsal. Nas laterais a banda subterminal ocupa maior extensão dos pêlos bandeados, garantindo um aspecto mais claro e castanho às laterais do corpo. A coloração predominantemente acinzentada do ventre contrasta com a coloração lateral devido à presença de pêlos contendo bandas e bases ainda mais claras do que os dorsais. Uma linha mediana alaranjada estende-se pela superfície ventral da região da garganta até o ânus. O queixo é marcado por uma mancha de pêlos inteiramente esbranquiçados e em alguns indivíduos esta mancha apresenta-se seguida de um conjunto de pêlos avermelhados ocupando a região peitoral. A orelha é coberta internamente e externamente por pequenos pêlos bandeados e melânicos que proporcionam uma coloração similar à região dorsal. As patas posteriores e anteriores possuem suas superfícies dorsais cobertas por pêlos marrom-escuros, que se tornam mais claros nos dígitos. A cauda possui pêlos diminutos escuros intercalados por escamas de coloração preta.

A coloração geral apresentada pelos representantes da forma escura de Viçosa assemelha-se mais a pelagens de indivíduos de amostras costeiras do que de amostras interioranas do grupo *dasytrichus*. Exemplares das amostras do Espírito Santo, Rio de Janeiro e São Paulo compartilham as mesmas condições de coloração e estruturação dos pêlos bandeados dorsais e laterais, diferindo apenas na intensidade da coloração ventral,

mais amarronzada, e na cor da cauda, marrom-escuro, recorrentes em alguns espécimes das amostras “ubat”. Padrões mais conspícuos de diferenciação foram constatados entre a forma escura de Viçosa e as amostras “robe” e “pass”. Estas duas amostras mais interioranas apresentaram padrões em geral bem mais claros na coloração dorsal da pelagem. Os representantes de *O. roberti* (“robe”) exibiram pêlos bandeados bem mais claros do que as amostras mais costeiras (“sant”, “prti”, “ubat”, “ilha” e “pret”), a banda subapical exibindo uma coloração bege e a extremidade apical dos pêlos esbranquiçada. O ventre destes exemplares apresentou pêlos de base prateada e banda apical ocre, produzindo um aspecto amarelo-acinzentado à pelagem ventral. Os espécimes de Passos (“pass”), Minas Gerais, foram os que mais se aproximaram do padrão de coloração dos exemplares de Goiás, divergindo apenas na tonalidade menos acinzentada das laterais e ventre em relação à *O. roberti*. A tonalidade predominantemente amarela-acinzentada da pelagem dos exemplares de Goiás (“robe”) coloca-os como um extremo da variação de coloração do grupo *dasytrichus*.

O outro extremo de coloração é representado por exemplares de Cairu e Porto Seguro, Bahia, exibindo pelagens caracteristicamente melânicas. Estes dois exemplares da região sul da Bahia, em comparação às amostras costeiras do sudeste brasileiro apresentam pêlos dorsais bandeados com bandas subapicais mais reduzidas, de coloração alaranjada, resultando na predominância dos tons escuros das bases dos pêlos bandeados dorsais e laterais, além da maior frequência de pêlos inteiramente melânicos. O ventre apresenta a mesma tonalidade geral marrom-acinzentada de espécimes austrais de “ilha” ou “ubat” e a cauda também se aproxima da cor escura dos demais exemplares de localidades costeiras.

De qualquer modo, independentemente do *status* taxonômico de *O. roberti*, a forma escura encontra-se inserida dentro de um gradiente de variação geográfica dos caracteres morfométricos e padrões de coloração da pelagem, apresentando similaridade em padrões de covariância de caracteres cranianos com amostras de Minas Gerais e tonalidade de coloração das bandas subterminais com exemplares de amostras costeiras.

Oliveira (1998) obteve padrões de disposição morfométrica das amostras geográficas semelhantes para análises do grupo *dasytrichus*, grande parte da variabilidade morfométrica estando relacionada ao tamanho e as amostras mais meridionais

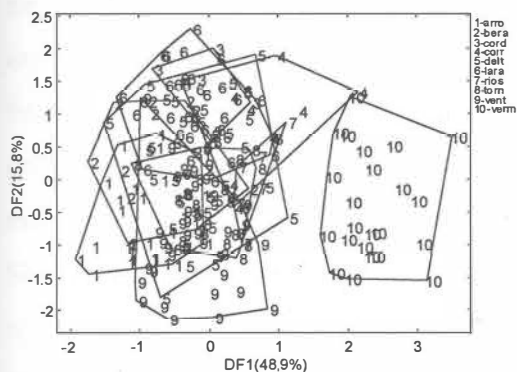
apresentando crânios maiores para maior parte dos caracteres. No entanto, a influência etária não foi refutada nas análises de Oliveira (1998) e a ocorrência de variação geográfica em caracteres cranianos não pôde ser inferida. A inclusão neste trabalho de um maior número de indivíduos das localidades de Ilha Grande, Espírito Santo e Minas Gerais, abrangendo várias classes etárias, provavelmente contribuiu no fortalecimento da hipótese de variação clinal em um gradiente norte-sul. Outra controvérsia entre este trabalho e a revisão de Oliveira reside no *status* e associação de *O. roberti* em relação às amostras mais costeiras do grupo. Os padrões de diferenciação craniométrica obtidos por Oliveira, além das diferenças na coloração da pelagem, levaram-no a manter o *status* específico desta forma nominal dentro do grupo *dasytrichus*, incluindo nela somente a população da Anápolis, Goiás, além da série-tipo de Araguari, Minas Gerais. Oliveira ainda salientou o posicionamento intermediário de amostras de outras regiões de Minas Gerais (Caratinga, Conceição do Mato Dentro), apesar destas serem morfometricamente mais próximas de populações costeiras. No presente estudo, entretanto, amostras de Minas Gerais e até do Espírito Santo se sobrepuseram mais extensivamente com a amostra de Anápolis do que com amostras mais costeiras, evidenciando a contigüidade craniométrica entre estas populações. Por outro lado, o extremo de variação na tonalidade das bandas subterminais apresentado pela amostra de Anápolis garante o seu reconhecimento quando comparada à forma de Viçosa ou outras amostras de Minas Gerais. A investigação do *status* de *O. roberti* fica fora do universo de discussão deste trabalho em razão do material escasso para conclusões mais consistentes. De qualquer modo, a falta de segregação morfométrica e a maior similaridade em pelagem entre a forma de Viçosa e as amostras litorâneas sugerem maior afinidade entre estes dois conjuntos integrando *O. dasytrichus*, enquanto que *O. roberti* permanece associado somente à forma de Anápolis e de Araguari, como proposto por Oliveira (1998).

grupo *rufus*

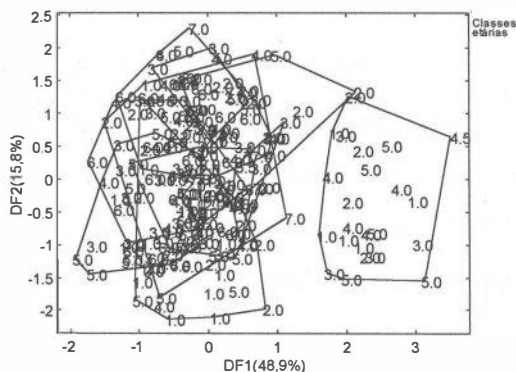
As análises morfológicas dentro do grupo *rufus* incluíram somente as amostras reduzidas “cord” e “rios” além das oito grandes amostras utilizadas na Análise Canônica Independente-do-tamanho. A inclusão da amostra de Entre Rios (“rios”) permitiu avaliar a relação do nome *rufus* com a forma avermelhada de Viçosa, uma vez que este conceito tem sido associado à exemplares desta Província (Hershkovitz, 1994).

Foi realizada uma Análise Canônica Discriminante e as três maiores funções discriminantes (DF1, DF2 e DF3) foram consideradas. Os dois primeiros eixos discriminantes abrangem 57% da variabilidade morfométrica das amostras e a representação dos escores individuais em relação a ambos revelou a presença de dois conjuntos de amostras bem definidos ao longo de DF1 (Figura 1.20a, c). Um dos conjuntos é formado isoladamente pela forma avermelhada de Viçosa e o outro por todas as demais amostras argentinas do grupo *rufus*. A representação dos escores em relação aos eixos DF1 e DF3, que abrangem 45% da variabilidade total, fornece o mesmo padrão de segregação entre a forma avermelhada e as amostras argentinas (Figura 1.20c), estas últimas sobrepondo-se consideravelmente no espaço multivariado. Para verificar a influência de fatores etários na discriminação morfométrica entre a forma avermelhada e as amostras argentinas, as idades dos indivíduos foram identificadas mantendo-se a forma original do polígono de cada amostra (Figura 1.20b, d). Foi possível constatar que os indivíduos adultos não se encontram concentrados diferencialmente na forma avermelhada ou nas amostras argentinas, se distribuindo homogeneamente ao longo das amostras. Além disso, os intervalos ontogenéticos abrangidos por cada amostra foram aproximadamente os mesmos no caso das amostras grandes ($n > 10$), refutando a influência de fatores etários no padrão de discriminação obtido.

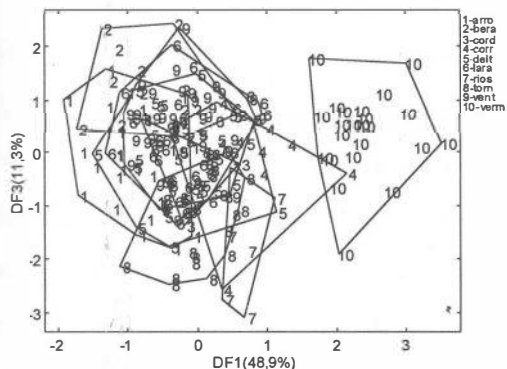
Elipses de 95% de confiança dos centróides de cada amostra foram obtidas (Figura 1.21). A disposição destas elipses revela que as amostras do grupo argentino segregam-se sutilmente ao longo de DF1 e DF2, enquanto a forma avermelhada permanece isolada, divergindo acentuadamente das demais. Através da interpretação da correlação vetorial entre os caracteres e as funções discriminantes DF1 e DF2, foi possível constatar que a maioria dos caracteres se encontra positivamente correlacionada



a



c



b

Figura 1.20. Análise discriminante dentro do grupo *rufus* considerando amostras pequenas alocadas *a posteriori* (veja acronímias nas Tabelas 1.3 e 1.4). (a) escores individuais identificados por amostra plotados em relação aos eixos de discriminação DF1 e DF2. (b) escores individuais identificados por amostra plotados em relação aos eixos de discriminação DF1 e DF3. (c) escores individuais identificados por classe etária em relação aos dois maiores eixos de discriminação para verificar a interferência da variação intrapopulacional no padrão de diferenciação observado (note que os polígonos mantêm a mesma conformação das amostras originais).

com o eixo DF2, e somente o comprimento do tubo nasal (CTN) encontra-se negativamente associado a esta função discriminante (Figura 1.21b). A diferenciação entre a forma de Viçosa e as amostras argentinas, nos eixos DF1 e DF2, expressa-se pelo incremento das dimensões do crânio ao longo de DF1, onde os caracteres relacionados principalmente à caixa craniana (LCA) e à morfologia do interparietal (LIP) destacam-se exibindo os maiores valores relativos em indivíduos desta amostra brasileira. Simultaneamente, a forma avermelhada apresenta também os menores valores de comprimento da ponte palatal (CPP) em relação ao conjunto argentino, portanto sugerindo uma discriminação alométrica entre estes dois conjuntos.

Em contraste ao padrão claro de diferenciação morfométrica entre a forma de Minas Gerais e o grupo argentino, as amostras deste último se apresentaram pouco dispersas no espaço morfométrico. Na Figura 1.21a é possível visualizar que as amostras “rios”, “corr”, “cord” e “lara” separaram-se um pouco mais das cinco demais amostras do sudeste da Província de Buenos Aires, situando-se em extremidades opostas do espaço compreendido pelo conjunto argentino. A divergência entre estes dois subconjuntos de amostras argentinas se encontra relacionada a uma tendência de incremento do crânio expressa ao longo de DF2, no qual os caracteres de comprimento da ponte palatal (CPP) e a largura da placa zigomática (LPZ) se pronunciam mais. As amostras mais setentrionais das Províncias de Corrientes, Córdoba, Entre Rios e Delta do Paraná (Buenos Aires) em geral apresentam maiores valores para a maioria dos caracteres craniométricos em relação às amostras do sudeste de Buenos Aires (Mar Del Plata, Sierra de La Ventana). Este padrão sugere um gradiente sul-norte de aumento das dimensões cranianas expressado pelos eixos DF2 e DF1, fato que é corroborado pela verificação de correlações significativas entre o aumento das dimensões cranianas e a diminuição da latitude (Figura 1.21e).

A existência deste contínuo morfométrico disposto em um gradiente sul-norte foi verificada também por Oliveira (1998) em suas análises com este grupo de espécies, apesar da influência do fator etário não ter sido completamente refutada.

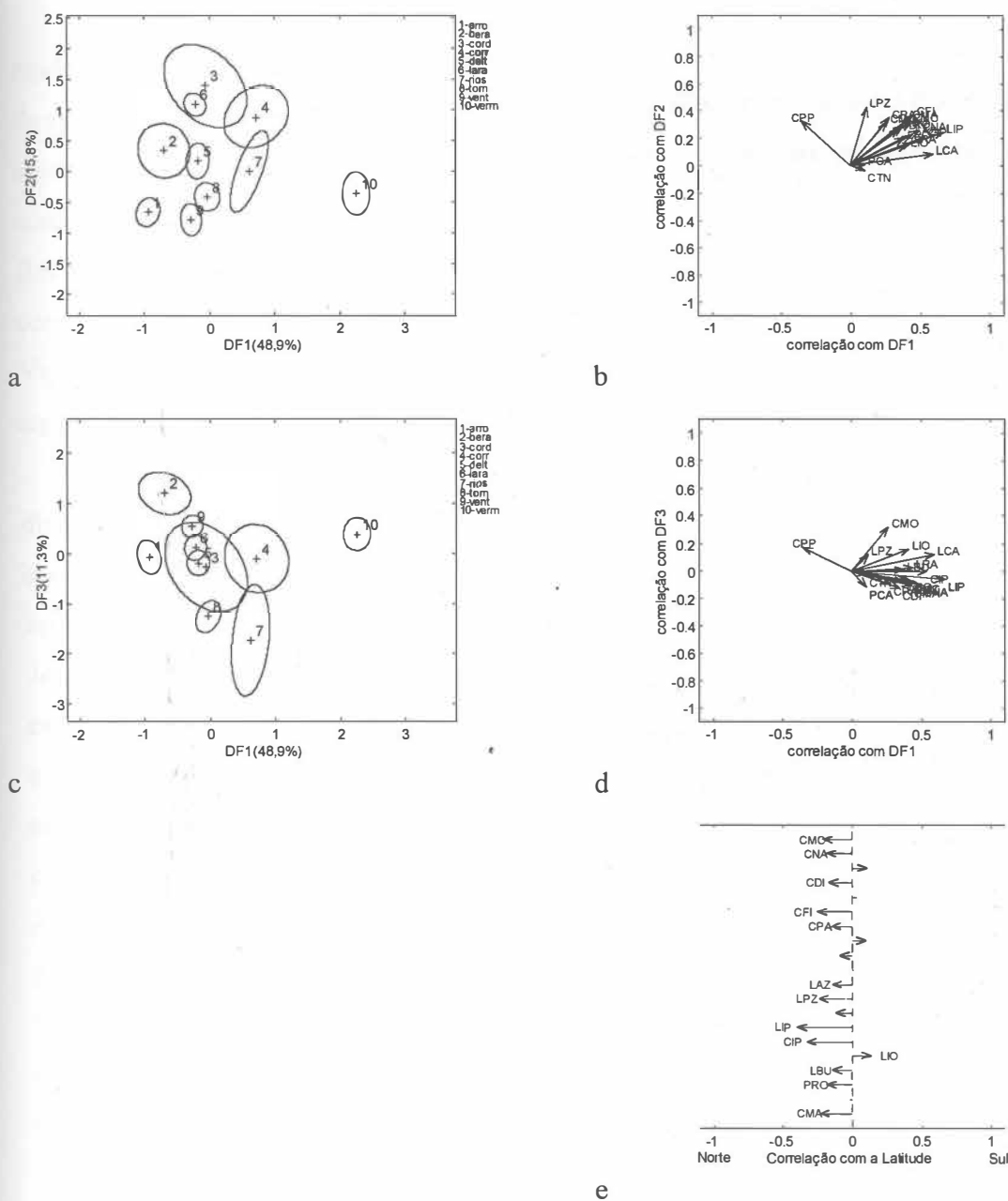


Figura 1.21. Análise discriminante dentro do grupo *rufus* considerando amostras pequenas alocadas *a posteriori* (veja acronímias nas Tabelas 1.3 e 1.4). (a) elipses de 95% de confiança dos centróides das amostras em relação aos eixos de discriminação DF1 e DF2 e (b) respectivos vetores de correlação entre as variáveis e os eixos, figurados ao lado (coeficiente > 0,3). (c) elipses de 95% de confiança dos centróides das amostras em relação aos eixos de discriminação DF1 e DF3 e (d) respectivos vetores de correlação entre as variáveis e os eixos discriminantes, figurados ao lado (coeficiente > 0,3). (e) orientação dos caracteres em relação à variação latitudinal das amostras argentinas do grupo *rufus*.

A forma de Viçosa constitui a amostra mais setentrional do grupo *rufus* e de certo modo também está incluída neste contexto geográfico de variação morfométrica, apesar de apresentar descontinuidades morfométricas e geográficas consideráveis em relação às amostras argentinas. Esta forma diverge das amostras argentinas principalmente pelo tamanho geral do crânio e representa o extremo de variação em caracteres como largura (LIP) e comprimento do interparietal (CIP), que se encontram mais fortemente correlacionados à variação latitudinal (Figura 1.21e). Este fato conecta a amostra de Viçosa à tendência de incremento sul-norte do crânio evidenciado pelas amostras argentinas.

A análise de caracteres qualitativos cranianos é congruente com o padrão de divergência morfométrica entre a forma avermelhada e as populações argentinas. A condição da barra do alisfenóide na maior parte dos exemplares deste grupo de espécies foi de ausência de uma barra completa dividindo estes dois forames, apesar da ocorrência de alguns polimorfismos. A forma de Viçosa apresentou a condição predominante de ausência da barra do alisfenóide em ambos os lados, enquanto as amostras “vent”, “torn” e “arro” do sudeste de Buenos Aires e as amostras “delt”, “bera” e “cord” apresentaram maiores polimorfismos, com alguns indivíduos possuindo barras nos dois lados ou em condições assimétricas (Figura 1.22). A amostra que mais se destacou na distribuição deste caráter foi “bera” dos arredores da cidade de Buenos Aires, exibindo as maiores frequências de condições de assimetria e de presença da barra nos dois lados. A amostra “rios” foi a única amostra que apresentou a condição fixa de ausência da estrutura, entretanto, o baixo número amostral provavelmente contribuiu para este padrão, sendo que apenas seis indivíduos desta população foram analisados.

Oliveira (1998) estudando amostras de regiões geográficas análogas às estudadas neste trabalho obteve um padrão semelhante de distribuição deste caráter, sendo que a ausência de barra do alisfenóide nos dois lados foi a condição mais frequente na maioria das amostras do grupo *rufus*. Os maiores polimorfismos foram verificados em amostras do Delta do Paraná e de Punta Lara, representadas aqui pelas amostras “delt”, “bera” e “lara”, também polimórficas no presente estudo (Figura 1.22). Aparentemente, as amostras argentinas apresentaram polimorfismos intrapopulacionais

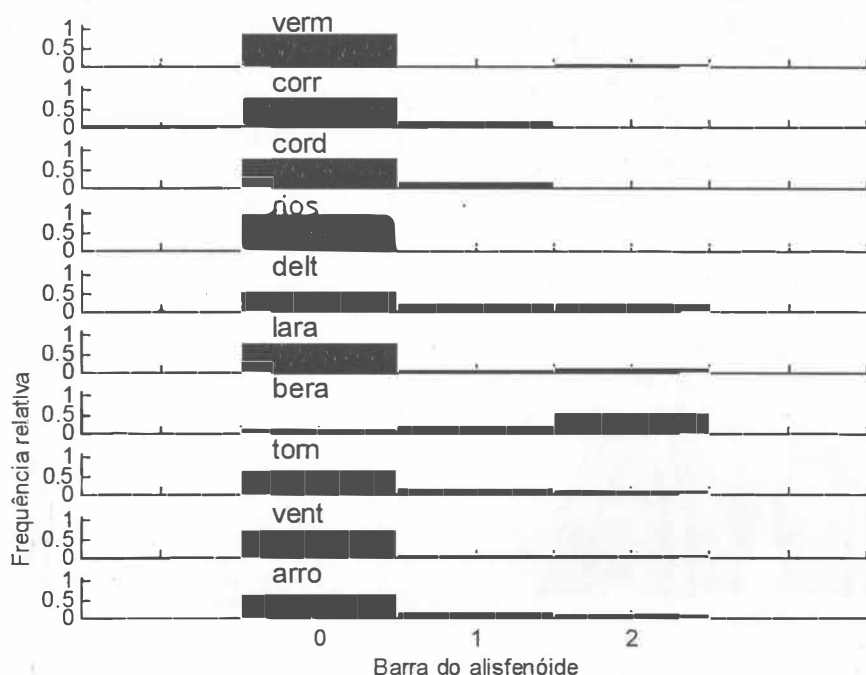
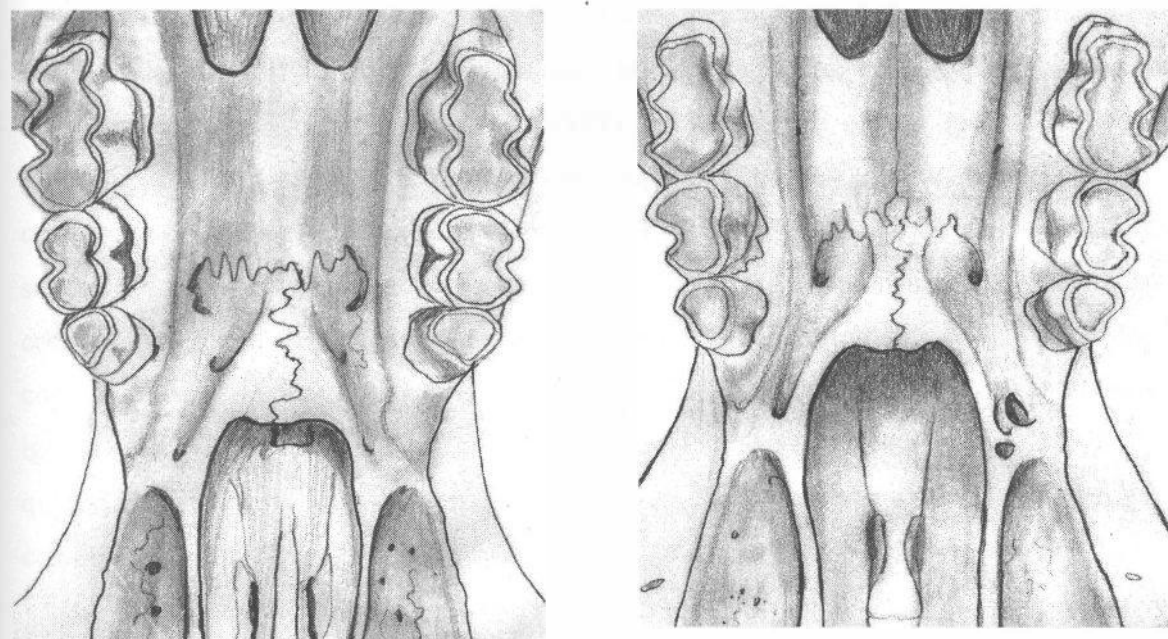


Figura 1.22. Frequências relativas das condições de presença e ausência da barra do alisfenóide em amostras populacionais do grupo *rufus*: 0 – ausente nos dois lados; 1 – presente somente em um dos lados (assimetria); 2 – presente nos dois lados.

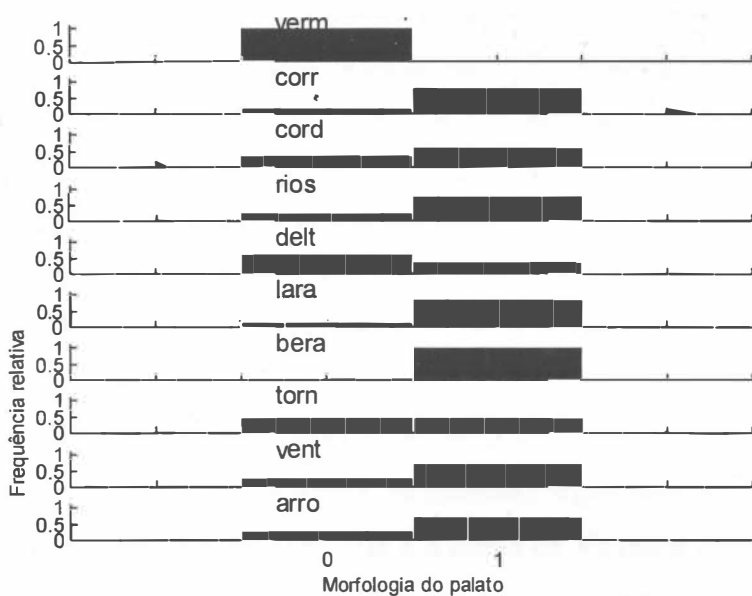
deste caráter mais frequentes do que a forma avermelhada de Viçosa, o que sugere maior variabilidade para o conjunto argentino deste grupo de espécies.

A morfologia palatal, além de contribuir na discriminação morfométrica nas análises anteriores, se mostrou útil também na caracterização qualitativa das amostras do grupo. A maioria dos exemplares ao longo das amostras argentinas apresentou um palato longo, onde o limite anterior da fossa mesoptergóide não se estende até a linha dos últimos molares superiores (Figura 1.23a). A distribuição deste caráter variou moderadamente nas amostras “torn”, “delt” e “vent” que apresentaram mais indivíduos com palato curto (65% e 55%) do que com palato longo (Figura 1.23b). A forma avermelhada de Viçosa foi uma das amostras que mais divergiu na distribuição deste caráter apresentando 100% dos indivíduos com o palato curto (condição fixada).

Deste modo, a morfologia do palato consistiu no melhor caráter qualitativo para diferenciação entre a forma de Viçosa e as amostras argentinas, apesar de sobreposições com as amostras “delt”, “torn” e “vent”. Entretanto, o valor diagnóstico de caracteres



a



b

Figura 1.23. (a) Vista ventral da região da ponte palatal ilustrando as duas condições de morfologia palatal: (esquerda) palato longo, ultrapassando a linha posterior de M3 (MN33670) e (direita) palato curto, não ultrapassando a linha posterior de M3 (MZUFV740). **(b).** Frequências relativas de condições da morfologia palatal de amostras populacionais do grupo *rufus*: 0 – palato curto com limite posterior na linha de M3; 1 – palato longo com limite posterior situado além da linha de M3.

polimórficos na delimitação de espécies tem sido questionada dadas as discordâncias relacionadas ao significado taxonômico ou filogenético destes polimorfismos intrapopulacionais (revisto por Wiens, 1999). A ocorrência de um mesmo atributo morfológico em populações, mesmo que em frequências distintas, pode ser interpretado como uma evidência indireta de manutenção do fluxo gênico entre estas entidades sugerindo a existência de uma única espécie biológica. Alternativamente, diferenças consideravelmente acentuadas na frequência de um dado caráter podem ser interpretadas como ausência de fluxo gênico entre populações, sendo que estes caracteres seriam igualmente válidos na delimitação de espécies (Wiens, 1999). Neste caso, a questão é quanto de diferença em frequências duas populações devem apresentar para serem consideradas como espécies distintas.

Davis & Nixon (1992) sugeriram um critério de agregação e separação de populações baseado em um raciocínio de que dois indivíduos com um mesmo fenótipo (estados de caracteres) não devem ocorrer em espécies distintas, mesmo que este fenótipo apresente frequências distintas nas populações. Estes autores argumentaram que assumindo indivíduos de fenótipos idênticos em espécies diferentes implicaria na evolução independente de uma mesma condição em espécies distintas (=homoplasia), o que não consistiria na hipótese mais parcimoniosa. No caso da forma de Viçosa, a sua distinção inequívoca em relação às amostras argentinas não é fornecida por nenhum caráter isolado. No entanto, uma combinação de caracteres poderia definir a forma de Viçosa dentro do grupo *rufus* de maneira que cada indivíduo desta população seria fenotipicamente distinto dos indivíduos de amostras argentinas.

Para investigar esta possibilidade, as amostras argentinas do grupo *rufus* foram reunidas em uma única amostra composta e a forma de Viçosa e os dois espécimes de Ouro Preto (“itac”) foram agrupados em uma segunda amostra, seguindo o padrão evidenciado pelas análises morfométricas anteriores. As duas amostras compostas foram representadas em relação aos caracteres de largura da caixa craniana e comprimento da ponte palatal (LCA e CPP), que se mostraram mais discriminantes nas análises morfométricas. As condições da morfologia palatal (longo ou curto) foram em seguida identificadas para cada indivíduo possibilitando a visualização da combinação dos três

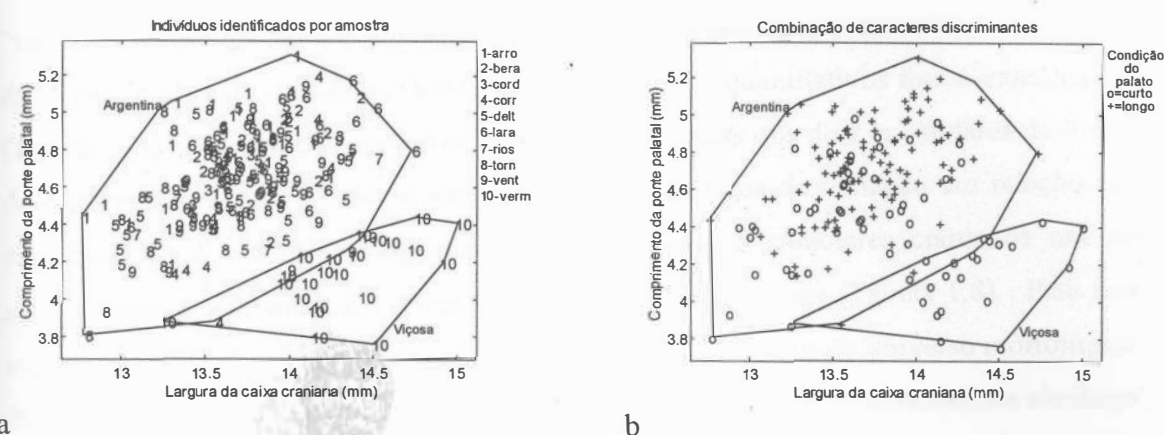


Figura. 1.24. Combinação de caracteres discriminantes entre a forma de Viçosa, Minas Gerais e as amostras da Argentina do grupo *rufus*. (a) Indivíduos dos dois grupos geográficos representados em relação ao comprimento da ponte palatal e à largura da caixa craniana identificados por amostra populacional, (b) Indivíduos dos dois grupos na mesma representação anterior com as condições de morfologia palatal identificadas. Note que um indivíduo de Corrientes ("4- corr") e dois de Sierra de la Ventana ("9-vent") se sobrepõem nos caracteres quantitativos com a forma de Viçosa (veja texto).

caracteres em cada amostra composta (Figura 1.23b). O comprimento da ponte palatal não se encontra tão relacionado com as condições de morfologia palatal (longo e curto), uma vez que variações na extensão posterior do palato podem ocasionar mudanças na magnitude desta medida, mas não ocasionam variações na extensão posterior do palato ósseo (ex.: indivíduos com os maiores valores de CPP apresentaram condições qualitativas de palato curto). No diagrama ao lado (Figura 1.24a), os espécimes foram identificados por amostras (1-10) revelando a ocorrência de dois indivíduos de Sierra de la Ventana ("9-vent") e de um espécime de Córdoba ("4-cord") no espaço bidimensional da forma avermelhada de Minas Gerais. O exemplar de Córdoba, no entanto, se diferencia por apresentar um palato longo, restando somente os dois espécimes de Sierra de la Ventana, Argentina, inteiramente sobrepostos. A interpretação deste fato é que a classificação correta de espécimes de Viçosa é acurada em 95% das vezes, o que significa que em 100 indivíduos, apenas 5 exemplares seriam erroneamente classificados na forma avermelhada.

Entretanto, esta conclusão é baseada na combinação de apenas três caracteres, sendo que as análises multivariadas (todos os caracteres em conjunto) claramente evidenciaram uma diferenciação considerável entre centróides das amostras "vent" e

“verm”. Para investigar a extensão da sobreposição morfológica entre os dois indivíduos de “vent” e a forma de Minas Geras, outros caracteres quantitativos foram examinados (Tabela 1.8). A simples análise das 20 medidas cranianas dos dois exemplares de Sierra de La Ventana revela-os claramente como extremos raros de variação em relação aos caracteres LCA e CPP, sendo que todos os outros 18 caracteres cranianos não se sobrepõem no intervalo de variação da forma de Minas Gerais (Tabela 1.8). Este fato sugere que estes dois exemplares constituiriam exceções dentro do universo morfológico da amostra “vent”, não justificando, portanto, assumi-los como fenotipicamente similares aos exemplares da forma avermelhada, que por sua vez, mantêm sua identidade morfológica dentro do grupo *rufus* através de uma combinação de caracteres.

A dificuldade na detecção de descontinuidades morfológicas cranianas dentro do grupo *rufus* levou Oliveira (1998) a sugerir três subespécies fenotipicamente distintas baseadas em caracteres morfométricos e de pelagem: *O. r. rufus* da região de Entre Rios, *O. r. platensis* da Província de Buenos Aires e *O. rufus* ssp. compreendendo indivíduos da Província de Córdoba. A comparação de indivíduos de Viçosa com representantes destas três subespécies revela que o padrão de coloração da pelagem da forma de Viçosa é muito similar ao de indivíduos das amostras de Buenos Aires (“delt”, “lara”), que incluem topotipos de *O. r. platensis*. Thomas (1917), descrevendo *O. platensis*, enfatizou o tom mais avermelhado da pelagem desta forma em comparação com um representante de *rufus* proveniente de Goya, Corrientes. De fato, os extremos de variação na coloração de pelagem opostos às amostras de Buenos Aires são justamente representados pelas amostras “cord”, “corr” e “rios”, das Províncias de Córdoba, Corrientes e Entre Rios, respectivamente, sugeridas como as outras duas subespécies dentro do grupo (*O. rufus* ssp. e *O. r. rufus*). Os exemplares de *O. r. rufus* (“rios” e “corr”) apresentaram coloração geral dos pêlos do dorso marrom-amarelado com uma faixa dorso-mediana acinzentada, que se estende da cabeça à base da cauda; as bandas subterminais dos pêlos dorsais e laterais possuem coloração amarelada e as bandas basais coloração cinza. O ventre é dominado por um tom geral bege com pequenos conjuntos de pêlos mais amarelados, resultantes do contraste entre as bandas subterminais amarelas e as bandas basais esbranquiçadas.

Tabela 1.9. Medidas de 20 caracteres cranianos de dois exemplares de Sierra de la Ventana, Argentina, e médias e intervalo abrangido pela forma avermelhada de Viçosa, Minas Gerais. Os dois exemplares argentinos apresentaram a mesma combinação de caracteres exibida pela forma de Minas Gerais, entretanto, divergem nos demais caracteres morfométricos possuindo crânios proporcionalmente menores (veja texto para explicação).

Indivíduos	Classes etárias	CMC	CNA	CTN	CDI	CMO	CFI	CPA	CPP	LRO	LRA
MLP5.2.96.57	2	32,72	11,78	2,02	7,48	5,08	6,68	13,7	4,16	5,14	8,28
MLP5.2.96.31	2	33,02	11,52	1,98	7,62	5,05	6,86	14,21	4,26	5,31	8,53
verm (n = 4)	2	34,75 (33,93-35,44)	12,94 (12,64-13,28)	2,06 (2,06-2,19)	7,87 (7,52-8,12)	5,14 (5,04-5,22)	7,29 (7,15-7,47)	14,74 (14,30-15,03)	4,07 (3,88-4,15)	5,63 (5,23-5,8)	8,70 (8,01-9,06)

Indivíduos	Classes etárias	LPZ	LAZ	LCA	LIP	CIP	LIO	LBU	PRO	PCA	CMA
MLP5.2.96.57	2	2,17	14,98	13,98	4,65	2,5	5,82	3,8	5,49	10,16	16,66
MLP5.2.96.31	2	2,23	14,75	14,34	6,31	2,06	5,94	3,94	5,82	10,48	16,77
verm (n=4)	2	2,33 (2,2-2,4)	15,30 (14,85-15,85)	13,91 (13,25-14,27)	6,98 (6,08-7,69)	2,61 (2,17-3,14)	5,74 (5,62-5,93)	3,93 (3,8-4,11)	6,04 (5,91-6,11)	9,95 (9,75-10,13)	17,67 (17,38-18,18)

As diferenças cromáticas com amostras de Córdoba são sutis, e em geral, os espécimes estudados desta Província apresentam bandas subterminais tão claras quanto exemplares de Entre Rios. O único exemplar da Província de San Luis analisado apresentou padrões semelhantes à subespécie de Córdoba (*O. r. spp.*) corroborando a consistência geográfica deste fenótipo. O grupo *rufus*, na verdade, se apresenta heterogêneo em termos de coloração, o que aparentemente corrobora as distinções fenotípicas propostas por Thomas (1917) e Oliveira (1998) na delimitação de unidades taxonômicas dentro deste complexo de espécies.

O problema específico da variabilidade em coloração de pelagem no grupo *rufus* é a concordância desta característica com outros conjuntos de caracteres. O valor taxonômico de caracteres da pelagem é enfraquecido devido às incongruências com a distribuição geográfica e caracteres cranianos das amostras. Como exemplo, a forma de Viçosa se aproxima de *O. r. platensis* em caracteres de pelagem, embora os caracteres craniométricos e a distribuição geográfica das amostras revelem descontinuidades marcantes entre estas duas formas. Outra incongruência consiste no contraste da heterogeneidade cromática com a continuidade morfométrica vista entre amostras geograficamente mais próximas de “cord”, “corr”, “rios” e “lara” da Argentina. Estas incongruências contribuem na consideração da variabilidade na coloração de pelagem como um fenótipo dissociado de diferenciações taxonômicas coerentes com a morfologia craniana e a estruturação geográfica das amostras. De qualquer modo, este assunto será retomado nos capítulos seguintes, aonde evidências adicionais vindas de outros conjuntos de caracteres são consideradas junto ao universo morfológico do grupo *rufus*.

CAPÍTULO II: PADRÕES DE DIVERGÊNCIA MOLECULAR E HIPÓTESES DE DIVERSIFICAÇÃO DE DUAS FORMAS SIMPÁTRIDAS DE *OXYMYCTERUS* DA MATA ATLÂNTICA

2.1 INTRODUÇÃO

As hipóteses de diferenciação do gênero *Oxymycterus* têm sido postuladas principalmente com base na interpretação de caracteres morfológicos, que também têm contribuído na inferência de relacionamentos interespecíficos e na diagnose de grupos de espécies. Apesar de carecerem de uma análise propriamente cladística, os grupos de espécies e divisões geográficas dentro do gênero têm sido interpretados como hipóteses de relacionamentos entre populações e espécies. Hershkovitz (1994), alocando as 23 formas nominais do gênero em duas divisões geográficas (atlântica e andina), supôs que cada uma destas unidades teria se originado independentemente através da dispersão de um ancestral comum a partir de um centro de origem meridional, o que implicaria na monofilia recíproca entre estas divisões. Oliveira (1998) ressaltou que as similaridades em padrões de variabilidade morfométrica craniana entre amostras populacionais alocadas a um mesmo grupo de espécies refletiriam relações filogenéticas, apesar de reconhecer que relacionamentos mais longínquos, envolvendo afinidades entre grupos de espécies, não poderiam ser diretamente interpretados com base nas análises morfométricas.

A abordagem morfométrica multivariada permanece bastante apropriada em vista da dificuldade na decomposição da diversidade morfológica do gênero *Oxymycterus* em caracteres discretos. Entretanto, a interpretação dos agrupamentos multivariados como reflexos da história evolutiva de linhagens é complicada devido à falta de discernimento entre possíveis sinapomorfias e plesiomorfias nas estimativas de similaridades nos padrões de forma e tamanho dos organismos (de Queiroz & Good, 1997).

O estudo de marcadores moleculares fornece uma alternativa às análises morfológicas, possibilitando testar as hipóteses construídas a partir dos padrões de variação morfológica e morfométrica. A variação exibida por alguns marcadores moleculares abrange uma parte da diversidade genética frequentemente não expressa em caracteres fenotípicos (Avice, 2000; Hillis et al., 1996; Lewin, 1999), podendo

revelar padrões de diferenciação muitas vezes obscurecidos pela continuidade morfológica apresentada entre amostras dentro dos grupos de espécies do gênero.

O gene mitocondrial citocromo *b* (cyt *b*) se adequa particularmente bem ao contexto da variabilidade exibida pelos agrupamentos intragenéricos de *Oxymycterus*, em razão da evolução relativamente rápida deste marcador molecular em comparação a estruturas morfológicas. A grande proporção de caracteres variáveis fornecidos por este gene, implicaria no maior poder de resolução de relacionamentos entre unidades taxonômicas evolutivamente próximas (Givnish & Sytsma, 1997). A análise de seqüências do cyt *b* também possibilita reconstruir a história de linhagens representadas por populações ou mesmo indivíduos, auxiliando na detecção de agrupamentos monofiléticos e fornecendo base para delineamentos de unidades evolutivas dentro dos grupos de espécies (Avise, 1995). Conseqüentemente, um amadurecimento das conclusões sobre as questões taxonômicas envolvendo as duas formas de Viçosa seria obtido a partir da análise do conjunto adicional de caracteres moleculares passíveis de um tratamento cladístico.

As formas simpátridas apresentaram padrões de divergência em caracteres do crânio, pênis e pelagem, que suportam uma hipótese de descontinuidade genética entre elas, sugerindo a existência de duas espécies de *Oxymycterus* em Viçosa, Minas Gerais. Através da análise de seqüências do cyt *b*, a hipótese de descontinuidade genética entre as amostras de Viçosa pode ser diretamente avaliada, já que a magnitude de divergência genética entre as duas formas pode ser objetivamente quantificada fornecendo evidência de isolamento ou coesão genética, suportando um teste mais acurado sobre o *status* taxonômico das formas escura e avermelhada.

A análise da variabilidade de caracteres morfológicos também sugeriu a alocação de cada uma das formas de Viçosa a grupos de espécies distintos. A forma escura foi alocada ao grupo *dasytrichus*, não alterando a distribuição geográfica deste conjunto, que abrange amostras distribuídas no sudeste do Brasil, enquanto que a forma avermelhada foi alocada ao grupo *rufus*, geograficamente mais distante, implicando na extensão setentrional deste conjunto de formas para Minas Gerais. Sob a perspectiva da sistemática molecular, o relacionamento entre as formas simpátridas e os grupos *dasytrichus* e *rufus* pode agora ser apropriadamente postulado em um contexto filogenético, avaliando também a existência destes grupos como entidades monofiléticas dentro do gênero.

Nas análises deste capítulo, seqüências de mais 5 espécies atlânticas e andinas representando 4 grupos de espécies (*nasutus*, *delator*, *juliacae*, *paramensis*) foram também consideradas, no sentido de avaliar a alocação das formas de Viçosa em um contexto taxonômico mais amplo.

A dificuldade no delineamento de limites morfológicos específicos dentro do grupo *dasytrichus* incluiu a forma escura dentro de um gradiente contínuo de variabilidade morfológica, sugerindo a co-especificidade entre amostras do Espírito Santo, Rio de Janeiro, Minas Gerais e São Paulo. No caso da forma avermelhada, a divergência morfométrica, combinada com caracteres qualitativos, revelou que a amostra de Minas Gerais representaria uma nova espécie dentro do grupo *rufus*. As hipóteses de diferenciação das formas simpátridas podem também ser reavaliadas nas análises moleculares considerando-se a integridade monofilética ou parafilética destas formas dentro de seus respectivos grupos de espécies.

Deste modo, as questões taxonômicas envolvendo o *status*, identidade e alocação taxonômica das formas simpátridas, anteriormente investigadas através das análises morfológicas, são agora discutidas sob a perspectiva da sistemática molecular, contribuindo para o teste das hipóteses taxonômicas de diferenciação do gênero na costa atlântica enunciadas anteriormente (Prefácio). Em virtude da maior abrangência taxonômica proporcionada pelas análises moleculares, o relacionamento entre grupos de espécies e a integridade de divisões geográficas (HersHKovitz, 1994) do gênero são discutidas à luz dos padrões de divergência molecular.

2.2 MATERIAIS E MÉTODOS

2.2.1 AMOSTRAS ANALISADAS

As seqüências para as análises moleculares foram obtidas de 14 amostras geográficas representando as duas formas de Viçosa, Minas Gerais, e os grupos *dasytrichus*, *rufus*, *judex*, *nasutus*, *delator*, *juliacae* e *paramensis* de Oliveira (1998) (Tabela 2.1; Figura 2.1). Os sete grupos de espécies considerados nas análises representam também as duas divisões geográficas andina e atlântica de HersHKovitz (1994) (Tabela 2.1). Um indivíduo da Bahia, coletado em Cairu, utilizado nas análises morfológicas foi incluído também nas análises moleculares representando a forma nominal *O. dasytrichus* devido à proximidade entre o local de coleta e a localidade-tipo desta espécie (Camamú, Bahia). Amostras obtidas em localidades de

altitude elevada da Serra do Mar, recentemente descritas como novos táxons (*O. caparoe*) ou ainda em estudo (*O. aff. nasutus*) também foram analisadas. *O. aff. nasutus*, uma forma proveniente das serras do Parque Nacional do Itatiaia, Rio de Janeiro, foi considerada por Oliveira (1998) como um novo táxon mais relacionado ao grupo *nasutus* e referida em seu trabalho como *Oxymycterus* sp1.

As seqüências de *Oxymycterus delator*, *O. hiska* e *O. paramensis* foram obtidas do GenBank através dos números de acesso U03525, U03536 e U03542, respectivamente.

Tabela 2.1: Amostras representativas das formas simpátricas de Viçosa e dos grupos de espécies de *Oxymycterus* incluídos nas análises moleculares. As classificações de grupos de espécies seguem as conclusões do primeiro capítulo deste trabalho e a alocação fornecida por Oliveira (1998).

Amostras	Divisões Geográficas	Grupos de espécies	Tamanho amostral	Localidades
forma avermelhada	Atlântica	<i>rufus</i>	3	População avermelhada de Viçosa (20°45'S, 42°52'W), Minas Gerais, Brasil.
forma escura	Atlântica	<i>dasytrichus</i>	2	População escura de Viçosa (20°45'S, 42°52'W), Minas Gerais, Brasil.
<i>O. dasytrichus</i> (BA)	Atlântica	<i>dasytrichus</i>	1	Cairu (13°29'S, 39°02'W), Estado da Bahia, Brasil
<i>O. dasytrichus</i> (ES)	Atlântica	<i>dasytrichus</i>	1	Venda Nova do Imigrante (20°20'S, 41°08'W), Estado do Espírito Santo, Brasil.
<i>O. rufus</i> (Córdoba1)	Atlântica	<i>rufus</i>	1	Repetidora (31°37'S, 64°52'W), Província de Córdoba, Brasil.
<i>O. rufus</i> (Córdoba2)	Atlântica	<i>rufus</i>	1	El Condor (31° 36'S, 64°46'W), Província de Córdoba, Brasil.
<i>O. rufus</i> (Buenos Aires)	Atlântica	<i>rufus</i>	1	Punta Lara (34°51'S, 57°51'W), Província de Buenos Aires, Argentina.
<i>O. rufus</i> (San Luis)	Atlântica	<i>rufus</i>	1	Papagayos (32 ° 40'S, 64 ° 58'W), Província de San Luis, Argentina.
<i>O. quaestor</i>	Atlântica	<i>judex</i>	1	Teresópolis (22°24'S, 42°57'W), Estado do Rio de Janeiro, Brasil.
<i>O. caparoe</i>	Atlântica	incertae sedis	1	Arrozal (20 °26'S, 41 °47'W), Parque Nacional do Caparaó, Minas Gerais/Espírito Santo, Brasil.
<i>O. aff. nasutus</i>	Atlântica	<i>nasutus</i>	1	Itamonte (22 °17'S, 44 °52'W), Parque Nacional do Itatiaia, Rio de Janeiro, Brasil.
<i>O. delator</i>	Atlântica	<i>delator</i>	1	13,3km N de Curuguaty (24 °23'S, 55 °47'W), Departamento Canendiyu, Paraguai.
<i>O. hiska</i>	Andina	<i>juliacae</i>	1	14km W Yanahuaya (14 °19'S, 69 °21'W), Departamento Puno, Peru.
<i>O. paramensis</i>	Andina	<i>paramensis</i>	1	55km N Calca (13 °00'S, 72 °08'W), Departamento Cusco, Peru.

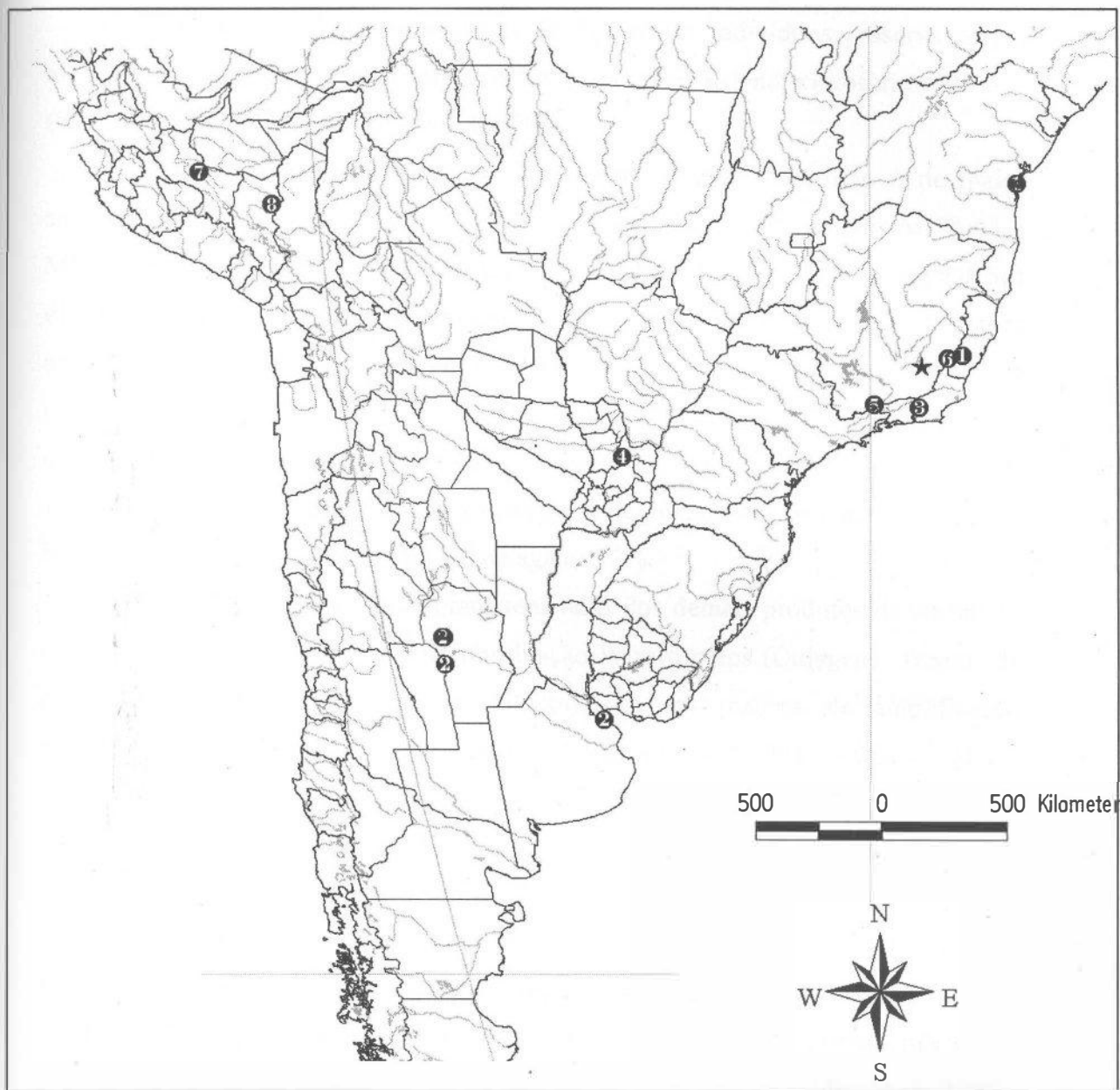


Figura 2.2. Mapa das amostras geográficas do gênero *Oxymycterus* utilizadas nas análises moleculares:

★ - amostras das duas formas simpátricas de Viçosa, Minas Gerais; 1 - *O. dasytrichus*; 2 - *O. rufus*; 3- *O. quaestor* (grupo *judex*); 4 - *O. delator*; 5 - *Oxymycterus* aff. *nasutus*; 6 - *O. caparoe*; 7 - *O. hiska*; 8 - *O. paramensis*.

2.2.2 ISOLAMENTO, AMPLIFICAÇÃO E SEQUENCIAMENTO DO GENE CITOCROMO *b*

O DNA foi isolado de amostras de fígado dos indivíduos preservadas em álcool absoluto, seguindo o método de proteinase K/fenol-clorofórmio/RNase (Sambrook et al., 1989; Smith et al., 1987).

As reações de amplificação da fita-dupla do gene citocromo *b* de maior sucesso foram feitas utilizando-se 1µl de uma combinação dos primers MVZ 05 e MVZ 16 (seqüências em Smith & Patton, 1993), 1µl da alíquota do DNA original, 5µl de tampão 10x¹, 0,4µl de TAQ-Polimerase em um volume de reação de 50µl por amostra individual. Todas as reações de amplificação da fita-dupla foram realizadas em um Termociclador Perkin Elmer 480 seguindo 33 ciclos de desnaturação a 96°C durante 1min., anelamento a 50°C por 1min e extensão das seqüências a 72°C durante 1,5min. Os produtos finais das reações contendo fragmentos amplificados de cerca de 800pb foram confirmados em um gel de agarose 2%.

Os fragmentos fita-dupla foram separados dos demais produtos da reação de amplificação utilizando-se o kit de purificação Wizard preps (Quiagen). Depois de purificadas, as amostras foram então utilizadas em reações de amplificação assimétrica (Gyllenstein & Erlich, 1988) para obtenção de haplótipos (fita-única) do cyt *b*. O kit DYEnamic ET Terminator Cycle Sequencing (Pharmacia) foi usado em combinação com 2µl do primer MVZ05 nestas reações, que foram processadas em um Termociclador GeneAmp PCR System 9700 (PE-Applied Biosystems), seguindo 25 ciclos de amplificação (Bonvicino & Moreira, 2001; Myers et al., 1995; Smith & Patton, 1993). O sequenciamento complementar com o primer MVZ16 não foi bem sucedido, portanto, cada amostra individual foi sequenciada no mínimo três vezes com o primer MVZ05 para confirmação das seqüências obtidas (Hillis et al., 1996). No final destas reações, 410 pares de base iniciais do citocromo *b* (códon 1-136 do cyt *b* de *Mus* [Bibb et al., 1981]) foram obtidos.

Os haplótipos foram decodificados em um seqüenciador automático Applied Biosystems Prism-377 integrado a um computador Macintosh, utilizando os programas Sequence Analysis 3.3. e Sequence Navigator 2.0 para edição e leitura das seqüências de nucleotídeos. As seqüências foram todas alinhadas manualmente ou automaticamente utilizando o programa CLUSTAL W (versão 1.8).

2.2.3 MÉTODOS ANALÍTICOS

Três métodos foram adotados para inferências filogenéticas a partir da variabilidade apresentada pelas seqüências de nucleotídeos do citocromo b: (1) análise de distâncias genéticas, (2) estimativas por modelos de evolução molecular e (3) análise cladística.

Distâncias genéticas

No primeiro método, distâncias genéticas expressando a similaridade na composição de nucleotídeos entre haplótipos foram utilizadas para inferências de relacionamentos interespecíficos. O método implementado para estimativa das divergências moleculares entre amostras foi o de Kimura 2-parâmetros (K2p; Kimura, 1980), considerando as substituições por transições e transversões como dois parâmetros distintos, onde as transições possuem maior frequência de ocorrência do que transversões.

Estas distâncias foram utilizadas como base para a construção de dendrogramas de similaridade entre haplótipos representativos das amostras geográficas. A matriz original de seqüências foi replicada por 1000 interações de *bootstrap*, onde as distâncias genéticas foram recalculadas estimando-se a acurácia dos agrupamentos. O procedimento de *neighbour-joining* (Saitou & Nei, 1987) foi implementado para a construção dos dendrogramas, expressando as magnitudes de divergência genética entre cada haplótipo pelo comprimento dos ramos, tendo como ponto de origem o nó entre os grupos externo e interno. As distâncias e a construção de dendrogramas foram realizadas com auxílio do programa MEGA 2.0 (Kumar et al., 2000).

Modelos de evolução molecular

Complementarmente, o método de verossimilhança-máxima foi implementado para inferências filogenéticas. Hipóteses filogenéticas (árvores) foram geradas a partir dos dados originais seguindo modelos específicos de evolução molecular (taxas de substituição). As probabilidades de ajuste das várias hipóteses geradas em relação

¹ Para uma solução tampão de 1M foram utilizados 670mM de Tris pH 8,8, 67mM de MgSO₄, 166mM de NH₄(SO₄) e 100mM de β-mercaptoetanol.

ao conjunto original de dados foram calculadas ($\ln L$), onde a árvore de maior verossimilhança ou probabilidade de refletir os dados originais foi selecionada como a melhor hipótese (Swofford et al., 1996).

O modelo F84 (Felsenstein, 1993) foi assumido para estimativa de taxas de substituição e geração de hipóteses filogenéticas. Este modelo acomoda variações nas frequências de ocorrência dos dois tipos de substituição de nucleotídeos (transição e transversão) e nas frequências de bases nitrogenadas nas sequências de DNA (A, T, C e G). As análises de verossimilhança foram conduzidas no programa PHYLIP 3.5c (Felsenstein, 1993).

Análise Cladística

Na abordagem cladística, cada sítio representou um caráter e as bases nitrogenadas (adenina, citosina, guanina ou timina) foram consideradas como estados de caracteres. Conseqüentemente, as variações de nucleotídeos (mutações por substituição de bases) em um cada sítio entre os haplótipos foram consideradas como séries de transformação não ordenadas (Swofford et al., 1996). Cladogramas expressando os padrões de agrupamento entre haplótipos das amostras foram construídos sob o critério de parcimônia máxima acompanhados de procedimentos de *bootstrap* de 1000 replicações aleatórias da matriz original para estimativas da acurácia e consistência dos agrupamentos formados (Felsenstein, 1985). O número de passos e os índices de consistência (CI) e retenção (RI) foram calculados para os cladogramas mais parcimoniosos obtidos.

As análises de parcimônia foram realizadas nos programas MEGA 2.0 (Kumar et al., 2000) e PAUP 3.1.1 (Swofford, 1993) utilizando o procedimento heurístico para a busca dos cladogramas mais parcimoniosos.

2.2.4 GRUPO EXTERNO

O relacionamento intergenérico de *Oxymycterus* dentro da tribo Akodontini (Muridae: Sigmodontinae) tem proporcionado algumas discussões na literatura. Similaridades morfológicas associadas ao aspecto semi-fossorial de alguns roedores akodontinos, levaram à proposição de proximidades evolutivas entre *Oxymycterus*,

Blarinomys e alguns gêneros andinos (*Podoxymys*, *Lenoxus*, *Geoxus* e *Abrothrix*), que juntos formariam um agrupamento supragenérico informal intitulado “*Oxymycterini*” (1966). Hinojosa *et al.* (1987), mais tarde, demonstraram que as evidências morfológicas e eletroforéticas não suportam a monofilia deste grupo dentro da tribo Akodontini, devido à ausência de sinapomorfias entre seus integrantes e à maior proximidade filogenética entre alguns “oxymycterinos” e outros “akodontinos” (ex.: *Lenoxus*). De fato, trabalhos recentes (Smith & Patton, 1993; Smith & Patton, 1999), analisando sequências do citocromo b de um amplo espectro de gêneros da tribo Akodontini e de outros agrupamentos supragenéricos, evidenciaram a exclusão de *Oxymycterus* e *Lenoxus* de um clado bem suportado envolvendo *Abrothrix*, *Chelemys* e *Geoxus*, gêneros antes considerados como oxymycterinos, além de incluir outros gêneros akodontinos de distribuição andina. Devido à divergência acentuada deste grupo em relação às tribos reconhecidas e à congruência de evidências citogenéticas, parasitológicas e geográficas, este clado de formas andinas foi proposto como um novo agrupamento tribal, a tribo Abrothrichini (1999).

Em vista da exclusão de *Oxymycterus* deste agrupamento, Smith & Patton (Smith & Patton, 1993; 1999) sugeriram uma hipótese de maior relacionamento deste gênero com o clado *Akodon–Thaptomys–Bolomys*, entretanto, ressaltando o baixo suporte de tal associação nas análises de *bootstrap* (<50%). Emmons (1999) incluiu seqüências de *Juscelinomys* nas análises da tribo Akodontini e revelou uma forte relação entre deste gênero com *Oxymycterus*, corroborando as similaridades morfológicas entre os dois táxons, postuladas anteriormente por alguns autores (Moojen, 1965; Reig, 1987). Os dois gêneros apresentaram níveis de divergência molecular de 0,102 a 0,118K2p de distância genética, valores próximos aos níveis de variação entre espécies de um mesmo gênero (ex.: *Akodon*, *Oryzomys*, *Oxymycterus*; Smith & Patton, 1999).

Apesar das diferenças no escopo taxonômico dos trabalhos de Emmons (1999) e Smith & Patton (1999), um consenso comum consiste na constatação de uma divergência evolutiva maior entre *Oxymycterus* e os gêneros *Brucepattersonius* e *Blarinomys*, ambos tratados como espécies de *Oxymycterus* no passado (HersHKovitz, 1994; Massoia & Fornes, 1969; Thomas, 1896; Winge, 1887) e dissociados como gêneros a partir de evidências morfológicas e citogenéticas (Bonvicino *et al.*, 1998; HersHKovitz, 1998; Oliveira, 1998). Tendo em vista a divergência genética moderada

de *Brucepattersonius* e *Blarinomys* em relação a *Oxymycterus*, estes dois gêneros foram utilizados como grupo externo nas análises filogenéticas.

2.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

2.3.1 DIFERENCIAÇÃO GENÉTICA

Variabilidade intrapopulacional

Os 375 primeiros pares de base do citocromo b foram utilizados para estimativa de distâncias genéticas corrigidas entre amostras (Tabela 2.2). A amostragem restrita de haplótipos por localidade não possibilitou uma inferência mais consistente sobre a variabilidade genética intrapopulacional, no entanto, as análises de haplótipos das formas avermelhada (n=3) e escura (n=2) de Viçosa, Minas Gerais, sugerem valores bem baixos de divergência intrapopulacional, variando de 0,003K2p a 0,008K2p de distância genética corrigida. Análises lidando com amostras populacionais de outros gêneros de roedores sigmodontíneos obtiveram valores de divergência próximos ou até um pouco maiores do que os aqui obtidos, alcançando de 0,0017K2p até 0K2p em espécies de *Akodon*, *Abrothrix* e *Bolomys* (Smith & Patton, 1993; Geise *et al.*, 2001).

Variabilidade dentro dos grupos de espécies

Os níveis de divergência entre amostras geográficas dos grupos *rufus* e *dasytrichus* variaram amplamente, apresentando valores de 0,011K2p até 0,088K2p de distância genética (Figura 2.1). O grupo *dasytrichus* exibiu níveis mais elevados de distância genética entre localidades em relação ao grupo *rufus*. A forma escura de Viçosa e a amostra de *O. dasytrichus* do Espírito Santo divergiram por 0,058K2p em média (Tabela 2.2). Estas duas localidades se encontram separadas por cerca de 80km e a diferenciação genética apresentada entre elas é relativamente acentuada em relação à esta distância geográfica. Maior heterogeneidade é adicionada pela amostra de *O. dasytrichus* da Bahia, mais próxima da localidade-tipo, marcadamente se diferenciando da amostra do Espírito Santo por 0,088K2p e da forma de Viçosa por 0,059K2p. A contigüidade morfológica entre amostras populacionais do grupo *dasytrichus* evidenciada nas análises do Capítulo I sugeriu o agrupamento da forma escura e amostras do Espírito Santo e Bahia em uma mesma espécie, entretanto, os

dados moleculares evidenciam maior heterogeneidade entre as amostras do leste e sudeste brasileiro alocadas a este grupo de espécies.

A análise da variação intraespecífica de marcadores moleculares entre populações parapátricas e alopátricas de roedores tem revelado várias espécies previamente não detectadas pelas análises morfológicas. Amostras geográficas de *Akodon boliviensis* analisadas por Smith & Patton (1993) apresentaram valores entre 0,05K2p e 0,10K2p de divergência genética, o que em conjunto com evidências citológicas, sugeriu a existência de espécies anteriormente não reveladas. Peppers & Bradley (2000), analisando amostras de *Sigmodon hispidus*, uma espécie amplamente distribuída, também evidenciaram níveis elevados de divergência genética entre populações consideradas co-específicas, atingindo valores de até 0,1538 de distância corrigida (Tamura-Nei). A ocorrência de espécies crípticas dentro do complexo *dasytrichus* não deve ser descartada e as análises de um número maior de haplótipos ao longo da distribuição geográfica deste grupo podem revelar espécies fenotipicamente similares.

Uma estruturação geográfica incipiente pode ser interpretada a partir do nível de diferenciação genética entre as amostras do Espírito Santo e Viçosa, que teria sido ocasionada pela redução de fluxo gênico entre estas populações. Além da estrutura geográfica de populações, a distância geográfica também pode amplificar as diferenciações genéticas (Nei, 1972). Este fato explicaria a diferenciação acentuada apresentada pela amostra da Bahia, que se encontra separada da amostra do Espírito Santo por cerca de 1000km. No entanto, estas hipóteses foram formuladas a partir de um

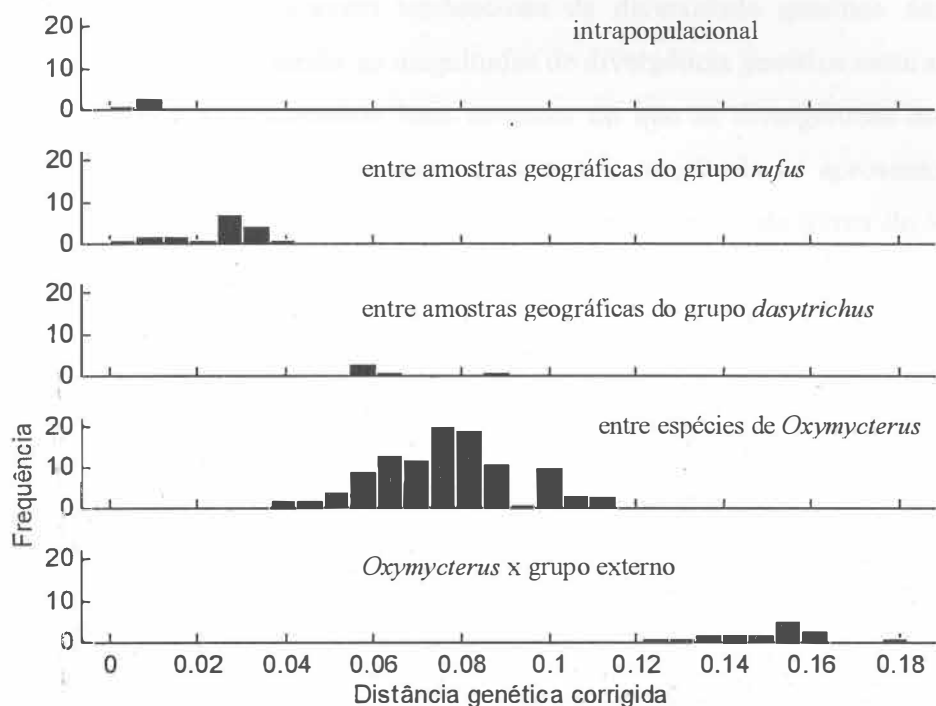


Figura 2.2: Níveis hierárquicos de divergência genética (Kimura 2-parâmetros) entre amostras de *Oxymycterus*. As distâncias genéticas foram estimadas com base em 374 pares de base do gene mitocondrial citocromo *b*.

conjunto reduzido de dados e devem ser testadas por análises de um número maior haplótipos representando a distribuição geográfica do grupo *dasytrichus*.

Os níveis de divergência entre amostras geográficas do grupo *rufus* foram relativamente mais baixos, variando de 0,025K2p até 0,038K2p, mesmo entre localidades geograficamente distantes. Como exemplo, a distância genética entre a forma avermelhada de Minas Gerais e o conjunto de amostras argentinas foi de 0,03K2p em média (0,022-0,039K2p), apesar da amostra argentina mais próxima do Brasil estar distanciada em cerca de 2200km da forma avermelhada de Viçosa. Entre as amostras argentinas, os valores de divergência foram ainda menores, apesar destas se apresentarem moderadamente distanciadas no espaço geográfico. Dentro deste conjunto de amostras, localidades geograficamente próximas apresentaram divergências mais elevadas do que em relação a amostras mais distantes. As duas localidades da Província de Córdoba (Córdoba 1 e 2) diferiram (0,027K2p), do que em relação a haplótipos mais distantes de

Punta Lara, Buenos Aires (0,011K2p e 0,016K2p). Entretanto, estes padrões podem refletir apenas uma amostragem tendenciosa da diversidade genética das amostras argentinas. De qualquer modo, as magnitudes de divergência genética entre amostras do grupo *rufus* foram aparentemente bem menores do que as divergências morfológicas reveladas nas análises morfométricas e a forma avermelhada se apresentou como a população mais diferenciada do grupo. O *status* taxonômico da forma de Viçosa será discutido mais aprofundadamente no Capítulo III.

Variabilidade entre espécies reconhecidas do gênero

Haplótipos de espécies reconhecidas por Oliveira (1998) divergiram entre si por 0,075K2p em média (0,039-0,110K2p) (Figura 2.2). Os menores valores de divergência foram encontrados entre *O. delator* e *O. aff. nasutus*, que diferiram por 0,039K2p resultante de 3 transversões e 11 transições, enquanto que os maiores valores foram apresentados entre a amostra de *O. dasytrichus* do Espírito Santo e a forma avermelhada de Viçosa, que divergiram por 0,109K2p devido a 26 transições e 12 transversões. (Tabela 2.2). As duas formas simpátridas de Viçosa divergiram por 0,077K2p em média, diferindo em 30 substituições ocasionadas por 20 transições e 10 transversões. As formas andinas *O. hiska* e *O. paramensis* divergiram por 0,059K2p e ambas apresentaram distâncias reduzidas em relação a outras amostras alopatridas atlânticas como *O. delator* e populações argentinas de *O. rufus* (Buenos Aires, Córdoba e San Luis). As magnitudes de diferenciação entre as duas formas simpátridas foram bem próximas aos esperados entre a maior parte das espécies de *Oxymycterus*, corroborando seus *status* como duas espécies como postulado anteriormente pelas divergências morfológicas.

Em geral, os arranjos taxonômicos das amostras de *Oxymycterus* são concordantes com a estrutura da variabilidade genética vislumbrada pelo método Kimura 2-parâmetros. Os níveis médios de diferenciação genética interespecíficas foram maiores do as divergências dentre amostras de um mesmo grupo de espécies ou entre indivíduos de uma mesma população, evidenciando um padrão hierárquico de distribuição (Figura 2.2). Os maiores valores consistiram nas comparações entre amostras do gênero com o grupo externo.

2.3.2 EVOLUÇÃO MOLECULAR

Dentre os 410 pares de base de todas as sequências analisadas, 123 sítios apresentaram variação, onde 94 mutações foram ocasionadas por transições e 29 por transversões. As transições foram em média mais frequentes que as transversões, apresentando uma razão transição/transversão de 3:1. A frequência de substituições ao longo das posições internas dos códons também variou, sendo que substituições na terceira posição foram bem mais frequentes do que substituições na primeira ou segunda posições. A segunda posição se apresentou mais conservativa no conjunto de dados caracterizada pela ocorrência de somente uma substituição ocasionada por transversão.

As transições na terceira posição foram representadas em relação à distância genética corrigida (K2p) com o objetivo de se verificar a possível ocorrência de saturação ou “ruído” filogenético ocasionado pelo acúmulo deste tipo de substituição. A representação na Figura (2.2) revela que a frequência de transições na terceira posição aumenta crescentemente com o aumento da distância genética, sugerindo a ausência de saturação de transições na terceira posição dos códons das sequências de *Oxymycterus* analisadas.

As frequências de transições e transversões em genes mitocondriais aumentam consideravelmente em função do tempo de divergência entre táxons, e como as transições são em geral mais frequentes do que as transversões, é esperado que em um determinado momento da evolução molecular destes genes estas substituições ocasionem em homoplasias e, conseqüentemente, uma queda na qualidade do sinal filogenético (Myers *et al.*, 1995; Hillis *et al.*, 1996). Análises de variação do cyt b em grupos de roedores com longa história de divergência, como a família Echimyidae ou mesmo gêneros da tribo Oryzomyini, demonstram a ocorrência de saturações na terceira base devido ao acúmulo de transições (Myers *et al.*, 1995; Lara *et al.*, 1996; Bonvicino & Moreira, 2000; Lara & Patton, 2000). A ausência de saturações no conjunto de dados deste trabalho sugere uma evolução relativamente recente do citocromo *b* no gênero *Oxymycterus*, possivelmente como resultado de uma cladogênese também recente entre as formas deste táxon.

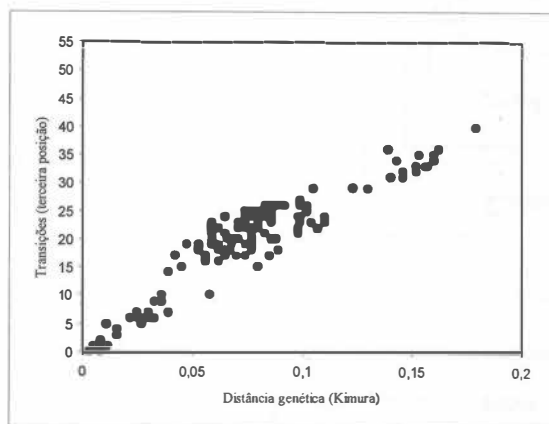


Figura 2.2. Variação no número de mutações por transição na terceira posição dos códons em função da distância genética corrigida Kimura 2-parâmetros. As distâncias genéticas foram calculadas a partir de 374 pares de base e as transições com base em 123 sítios variáveis.

2.3.3 ANÁLISES FILOGENÉTICAS

Dendrogramas de similaridade entre os haplótipos representantes das amostras populacionais foram construídos a partir das distâncias genéticas corrigidas, evidenciando uma politomia na base da ramificação inicial do gênero (Figura 2.3). Um agrupamento bem suportado (>90%), contendo a forma avermelhada e as amostras argentinas do grupo *rufus*, foi evidenciado. A forma escura e uma amostra de *O. dasytrichus* do Espírito Santo constituem um segundo grupo bem suportado (94%). Os comprimentos dos ramos deste grupo evidenciam que a amostra do Espírito Santo se apresenta um pouco mais diferenciada do que a forma escura. A amostra de *O. dasytrichus* de Cairu, Bahia, se associa fracamente com este grupo (22%), corroborando a heterogeneidade genética do grupo *dasytrichus*.

Os agrupamentos interespecíficos de outras formas nominais consideradas na análise de distâncias são em geral fracamente suportados, sendo que a maior parte das

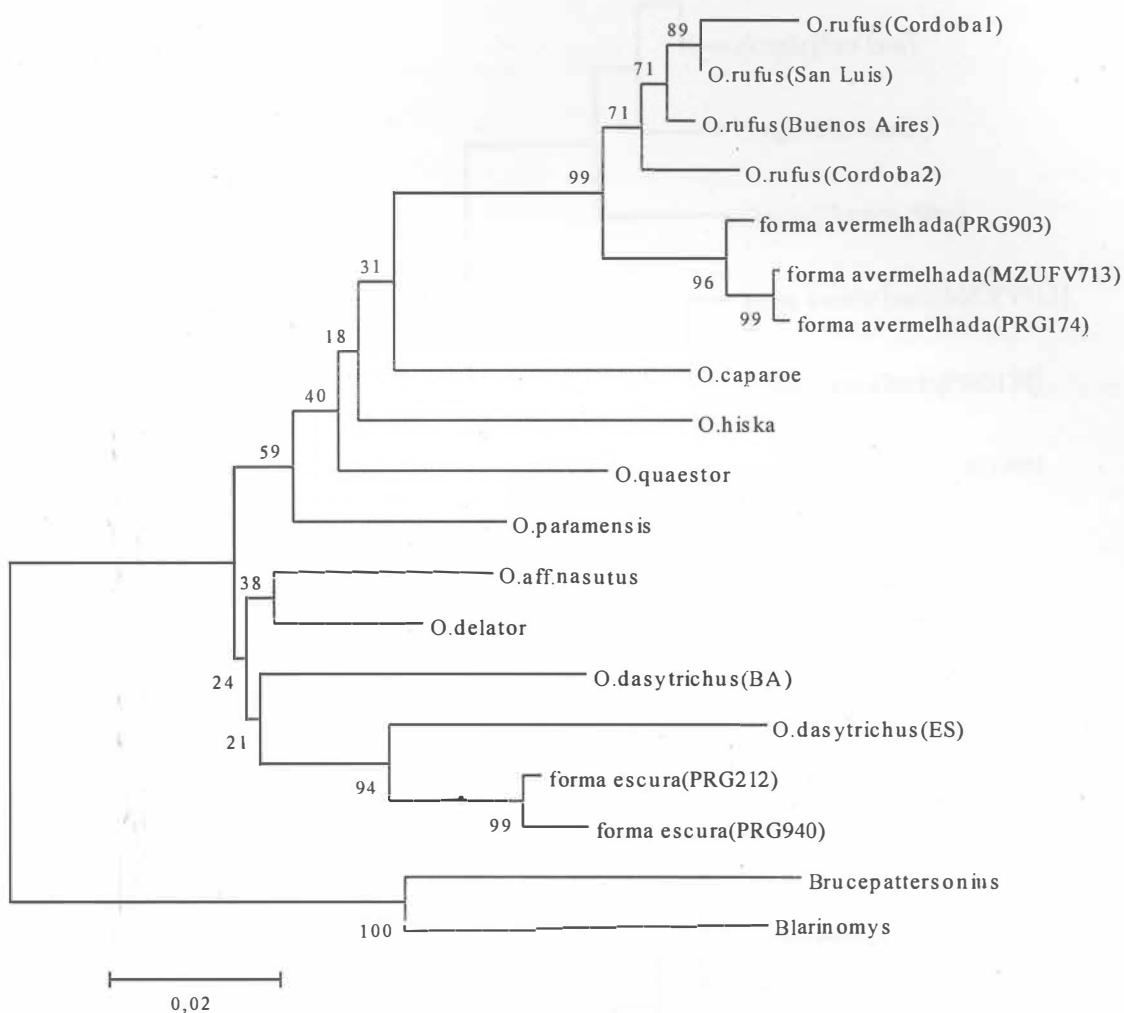


Figura 2.3. Dendrograma construído por *neighbour-joining* expressando similaridades entre 16 amostras populacionais do gênero *Oxymycterus* inferidas a partir das distâncias genéticas corrigidas (Kimura 2-parâmetros) entre haplótipos do citocromo *b*.

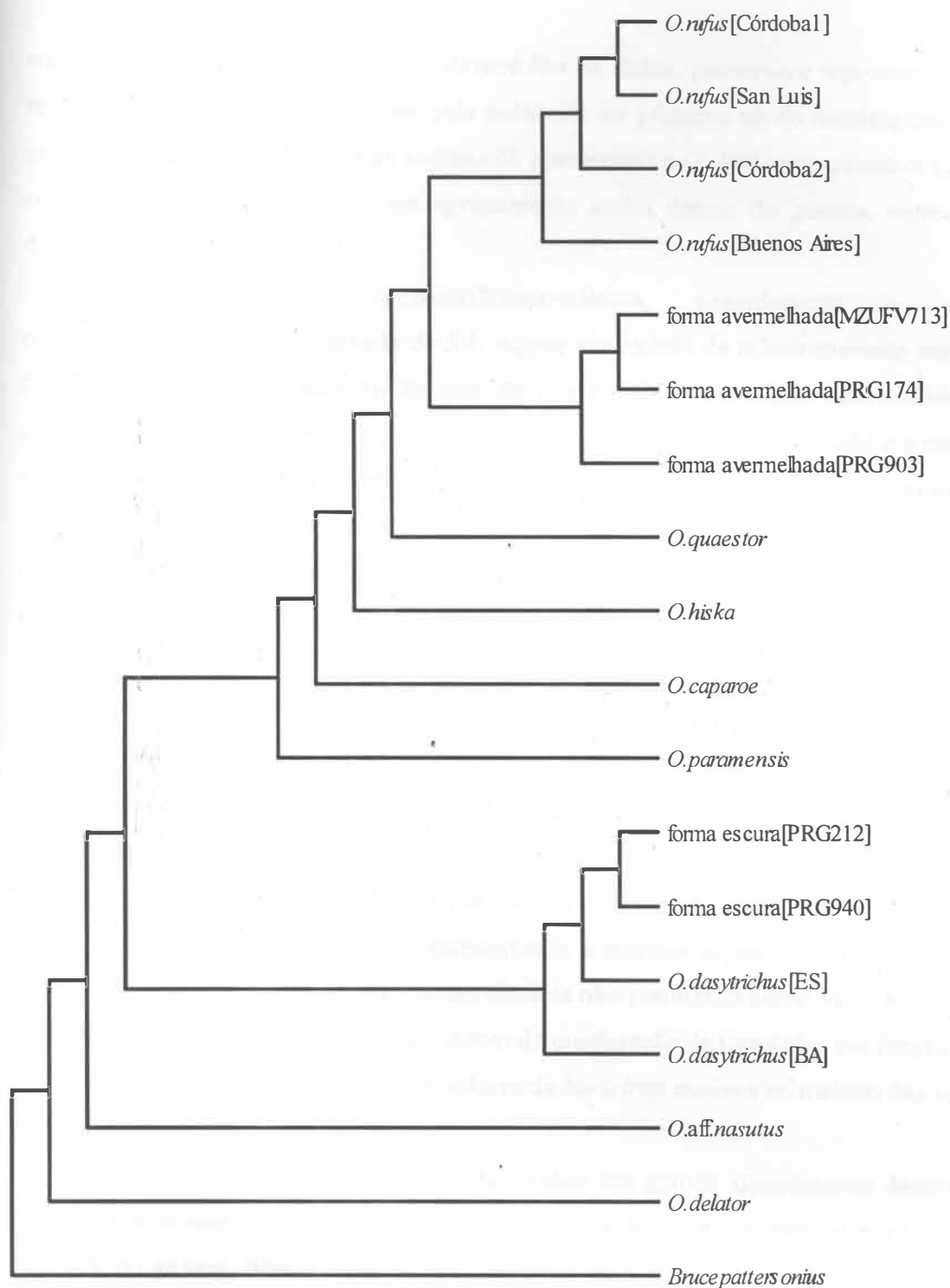


Figura 2.4. Melhor hipótese de relacionamento entre as 16 amostras do gênero *Oxymycterus* gerada pela análise de verossimilhança-máxima seguindo o modelo F84 com transversões ponderadas três vezes mais do que transições ($\text{Ln } L = -1696,1335$; 646 árvores examinadas).

espécies, incluindo a amostra de *O. dasytrichus* da Bahia, permanece representada por ramos bem divergentes conectados pela politomia no primeiro nó do dendrograma. *O. quaestor*, *O. caparoe* e as formas andinas *O. paramensis* e *O. hiska* permanecem unidas com o grupo *rufus* formando um agrupamento maior dentro do gênero, entretanto, debilmente suportado (55%).

O método de verossimilhança-máxima, considerando a razão transições/transversões observada de 3:1, sugere um padrão de relacionamento entre as formas do gênero ligeiramente distinto do que aquele evidenciado pela análise de distâncias genéticas (Figura 2.4). Um conjunto de 643 árvores foi avaliado e a melhor topologia ($\ln L = -1.696,13$) revelou *O. delator* como a forma mais próxima de *Brucepattersonius* compondo o primeiro nó da árvore. Na terceira dicotomia do dendrograma surge o grupo *dasytrichus* contendo as amostras do Espírito Santo e Bahia agrupadas junto com a forma escura de Viçosa. O grupo *rufus* permanece como o agrupamento mais divergente, composto pela forma avermelhada e as amostras argentinas. *O. hiska* se encontra mais próximo ao grupo *rufus*, e em seguida *O. caparoe*.

Duas análises de parcimônia máxima foram conduzidas, uma considerando a razão transições/transversões de 1:1 e outra pesando as transversões três vezes mais do que as transições como sugerido pelas frequências observadas ($ts:tv = 3:1$). Os cladogramas gerados pelos dois tipos de procedimento diferiram somente nas consistências dos clados estimados apresentando a mesmas topologias. Os valores de *bootstrap* obtidos tanto nas análises de parcimônia não-ponderada como na ponderada se encontram na base dos nós. O procedimento de ponderação de transições em função das transversões gerou agrupamentos com valores de *bootstrap* maiores na maioria das vezes (Figura 2.5).

A análise de parcimônia ponderada revelou um grande agrupamento dentro do gênero com moderado suporte (80%). Este grupo inclui o grupo *rufus* e mais quatro espécies do gênero, dentre estas, *O. paramensis* e *O. hiska*, espécies representantes da divisão geográfica andina de Hershkovitz (1994). A inclusão destas duas formas neste clado, constituído em sua maioria por espécies atlânticas, implica na parafilia da divisão atlântica. Divergências morfológicas entre *O. hiska* e *O. paramensis*, principalmente em tamanho, garantiu a alocação destas espécies a grupos de espécies distintos, como

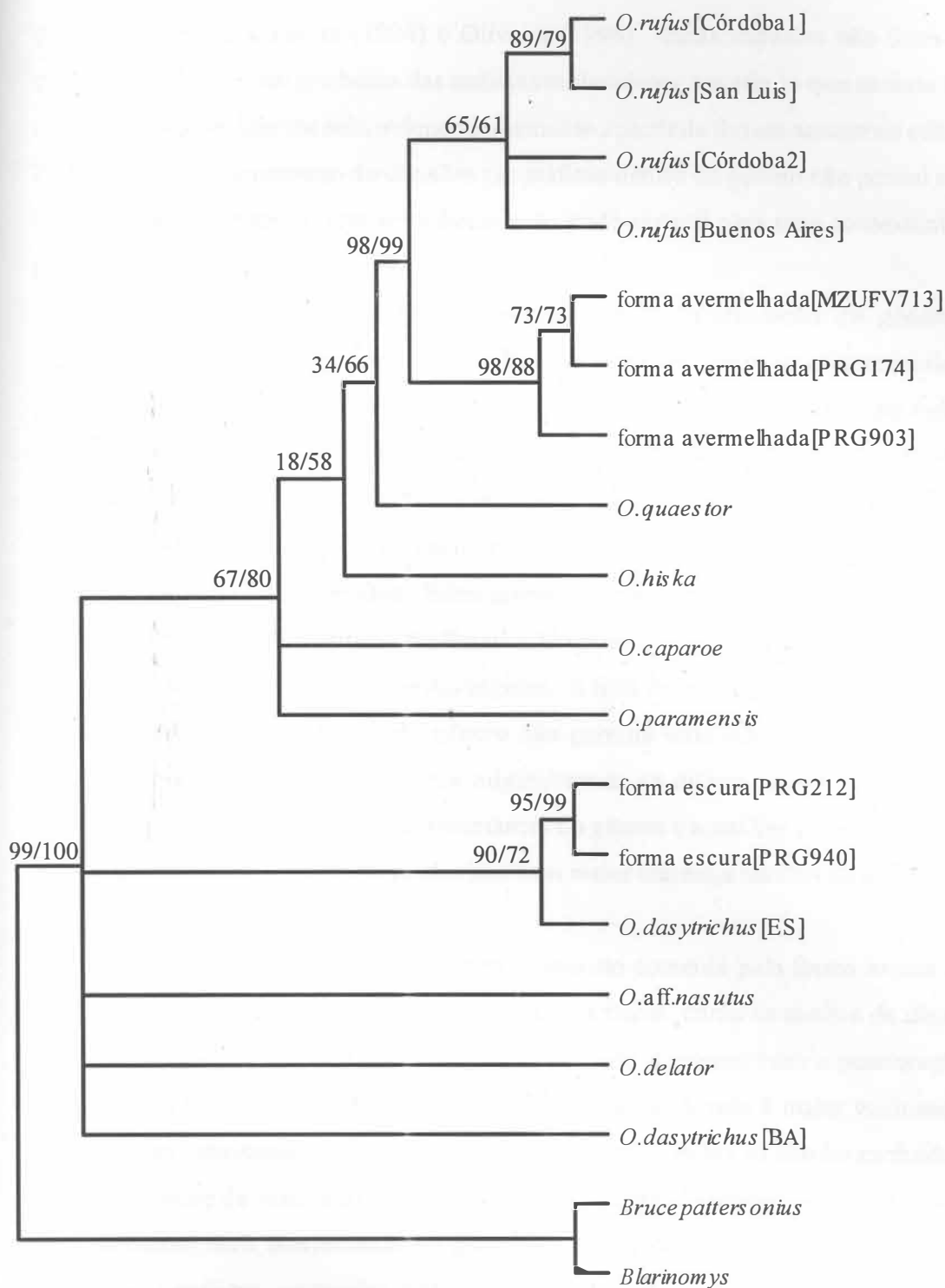


Figura 2.5. Cladograma de consenso estrito resultante da análise de parcimônia máxima ilustrando o relacionamento entre 16 amostras do gênero *Oxymycterus*. Valores nas bases dos nós correspondem às consistências dos clados calculadas através de 1000 replicações de *bootstrap* nas análises de parcimônia não-ponderada e ponderada, respectivamente (veja texto para explicação). Estatísticas: CI=0,513; RI=0,688.

proposto por Hershkovitz (1994) e Oliveira (1998). Estas espécies não formam um grupo monofilético em nenhuma das análises moleculares, sugerindo que as duas formas andinas teriam se diferenciado independentemente a partir de formas ancestrais atlânticas. Portanto, o reconhecimento de divisões geográficas dentro do gênero não possui suporte filogenético. No entanto, este reconhecimento pode ser útil para uma contextualização geográfica das espécies do gênero.

Hershkovitz (1994) também especulou que a diferenciação do gênero teria ocorrido pela dispersão de formas ancestrais a partir de um centro de origem meridional. O grupo de espécies com o limite de distribuição mais meridional é o grupo *rufus*. Ao contrário do que seria esperado pela proposta de Hershkovitz, este grupo constitui um clado originado tardiamente, após o surgimento de representantes dos grupos *delator*, *nasutus* e *dasytrichus*, que se encontram na ramificação basal de todas as árvores obtidas pelos diferentes métodos. Estes grupos apresentam-se distribuídos no Paraguai, Brasil central e costas atlânticas do Brasil e Uruguai, o que implicaria em um primeiro evento cladogenético do gênero nestas regiões. A falta de resolução das relações entre as espécies na base da irradiação do gênero não permite uma inferência mais específica sobre em qual região o gênero teria originalmente se diferenciado. A obtenção de sequências adicionais de outros representantes do gênero e a análise de maior número de caracteres do citocromo b poderão elucidar com maior clareza a história de diversificação inicial do gênero.

O grupo *dasytrichus* se apresentou composto somente pela forma escura e pela amostra do Espírito Santo, excluindo a amostra da Bahia, como na análise de distâncias genéticas (*neighbour-joining*). O suporte deste clado diminuiu com a ponderação das transversões, variando de 90% para 72%, provavelmente devido à maior valorização de substituições ocasionadas por transversões. A amostra da Bahia só não foi excluída deste grupo na análise de verossimilhança-máxima, e a sua grande diferenciação em relação às duas amostras mais meridionais do complexo *dasytrichus* foi revelada também pelas distâncias genéticas corrigidas (0,059-0,088K2p). As análises de parcimônia não suportam o grupo *dasytrichus* como um agrupamento monofilético, corroborando mais uma vez a elevada diferenciação genética entre as populações alocadas a este complexo de espécies. A amostra de Cairu, Bahia, localiza-se próxima à localidade-tipo de *O.*

dasytrichus (Schinz, 1821) e provavelmente constitui o representante mais provável desta forma nominal. Portanto, se as populações do sudeste brasileiro não se encontram associadas à amostra do sul da Bahia, o nome *O. dasytrichus* permaneceria restrito às formas da Bahia, enquanto que o nome *O. rostellatus* ficaria disponível para as amostras do sudeste do Brasil alocadas ao grupo *dasytrichus*, como conjecturado por Oliveira (1998). Estas conclusões são precoces com base nos dados analisados até o momento, e considerações taxonômicas adicionais sobre esta problemática serão realizadas no próximo capítulo. Por enquanto, os resultados obtidos das análises moleculares indicam uma diferenciação genética relativamente elevada dentro do grupo *dasytrichus* e um agrupamento razoavelmente consistente entre a forma de Viçosa e a amostra de Venda Nova do Imigrante, Espírito Santo.

O grupo *rufus* novamente não variou em seu conteúdo, sendo suportado pelos maiores valores de *bootstrap* (97-99%) obtidos nos procedimentos de parcimônia máxima. Dois agrupamentos monofiléticos estão incluídos dentro deste grupo de espécies, um composto por haplótipos da população de Viçosa, e o outro formado por haplótipos de localidades argentinas. No grupo de amostras argentinas, duas localidades próximas situadas na Província de Córdoba (Córdoba 1 e 2) não permanecem unidas, sendo que uma delas se agrupa 79% das vezes com a amostra da Província de San Luis e a outra se apresenta com seu posicionamento incerto dentro do clado argentino. A amostra de Buenos Aires também se encontra com seu relacionamento incerto formando uma politomia junto a uma das amostras de Córdoba e ao agrupamento San Luis-Córdoba. As distâncias genéticas entre amostras do clado argentino são relativamente baixas e estas amostras podem representar populações de uma mesma espécie. No caso de co-especificidade entre as amostras argentinas, a falta de resolução e congruência geográfica dentro deste clado poderia ser atribuída a uma origem relativamente recente destes haplótipos e à ocorrência de um fluxo gênico entre estas populações, o que se adequa às distâncias genéticas reduzidas constatadas entre amostras argentinas. A forma avermelhada permaneceu como uma unidade monofilética dentro do grupo *rufus*, apesar da diferenciação genética relativamente reduzida em relação às amostras argentinas. Estas evidências sugerem uma estruturação geográfica relativamente recente entre a forma de Viçosa e o clado argentino, e isoladamente não caracterizam a forma de Viçosa

como uma nova espécie dentro do grupo *rufus*. De qualquer modo, a análise de marcadores moleculares não deve ser considerada isoladamente de outros conjuntos de caracteres não-correlacionados na delimitação de limites específicos. A detecção de pequenos agrupamentos monofiléticos dentro de espécies com certa estruturação geográfica é esperada devido ao padrão hierárquico de fluxo gênico (Avice, 1995; Sites Jr. & Crandall, 1997). A combinação das evidências moleculares e morfológicas na delimitação de espécies dentro do grupo *rufus* é considerada no próximo capítulo.

CAPÍTULO III: IMPLICAÇÕES TAXONÔMICAS E BIOGEOGRÁFICAS DAS ANÁLISES MORFOLÓGICAS E MOLECULARES DAS FORMAS SIMPÁTRIDAS DE VIÇOSA, MINAS GERAIS.

3.1 IMPLICAÇÕES TAXONÔMICAS

3.1.1 STATUS DAS DUAS FORMAS SIMPÁTRIDAS E DIVERSIDADE DE ESPÉCIES DA CLASSE GRANDE.

A definição de limites entre espécies e a associação destas entidades aos nomes disponíveis na literatura constituem as tarefas mais complexas na taxonomia do gênero *Oxymycterus*. Como discutido anteriormente, a variabilidade morfológica do gênero tem gerado diferentes interpretações taxonômicas ao longo de dois séculos de estudos do grupo, resultando em períodos de compressão e expansão do número de espécies reconhecidas. Burmeister (1854), sinonimizando *Hypudaeus dasytrichos* com *Oxymycterus rufus*, cunhou uma tendência seguida por vários autores posteriores (Winge, 1887; Cabrera, 1961; Musser & Carleton, 1993; Hershkovitz, 1994), que trataram sob uma mesma espécie amostras distintas em termos morfológicos e geograficamente distantes. Muito desta tendência se deve à ausência de séries-tipo e à imprecisão das descrições originais realizadas em um período em que a diversidade de roedores sigmodontíneos era pouco conhecida. Com um avanço na caracterização morfológica do gênero iniciado principalmente por Oldfield Thomas (Thomas, 1884, 1896, 1900, 1901, 1902), novos táxons foram descobertos e descritos, e as comparações entre amostras alopátridas de formas nominais previamente existentes na literatura forneceram pela primeira vez uma base inicial para a delimitação morfológica de algumas espécies. Em uma revisão mais profunda da diversidade do gênero, Oliveira (1998) analisou amostras representantes de grande parte da abrangência geográfica do gênero, sugerindo a existência de mais unidades evolutivas do que as reconhecidas taxonomicamente. Esta visão de maior diversidade se opôs à tendência cunhada no passado e expressa mais recentemente por Hershkovitz (1994, 1998) e outros autores (Cabrera, 1961; Musser & Carleton, 1993).

Imbuídas nas duas interpretações da diversidade do gênero *Oxymycterus* se encontram filosofias distintas de aplicação de um conceito de espécie a amostras alopátridas. Considerando o conceito biológico de espécie (Mayr, 1963), uma espécie biológica pode ser concebida como um conjunto de populações separadas no espaço, mas conectadas biologicamente por um compartilhamento comum de genes, proporcionado pela propriedade de compatibilidade reprodutiva e pelo processo de fluxo gênico. Mayr (Mayr, 1963; Mayr & Ashlock, 1991) esclareceu que durante o processo de aplicação do conceito biológico, um conjunto de indivíduos é subdividido em classes conhecidas como *phenas*, que são geralmente diagnosticáveis com base em alguns caracteres. Estas classes são consideradas como hipóteses sobre a diversidade de espécies existente que devem ser posteriormente testadas através da verificação de isolamento reprodutivo ou fluxo gênico entre os *phenas* postulados. Entretanto, algumas dificuldades têm sido apontadas sobre esta abordagem, em parte, no que diz respeito à comparação de amostras alopátridas, onde freqüentemente não se dispõe de evidências diretas de compatibilidade reprodutiva, pois as amostras simplesmente se encontram dispersas no espaço (Frost & Hillis, 1990; Graybeal, 1995). Conseqüentemente, o teste genético de limites entre espécies dificilmente é realizado na prática taxonômica usual.

No caso de Hershkovitz (1994) e Oliveira (1998), as controvérsias taxonômicas sobre a diversidade de espécies no gênero *Oxymycterus* se enquadram na problemática de aplicação de um conceito de espécies a amostras alopátridas. Hershkovitz (1994), diante da variabilidade morfológica das formas atlânticas do gênero, postulou que os diferentes fenótipos de coloração de pelagem dentro da classe “grande” poderiam ser produtos de polimorfismos recorrentes em populações de uma mesma espécie, e que, portanto, algumas formas nominais desta classe provavelmente seriam sinônimas de uma única espécie. Alternativamente, Oliveira reconheceu as formas nominais alocadas na classe atlântica “grande” de Hershkovitz como quatro grupos de espécies distintos (*angularis*, *dasytrichus*, *judex* e *rufus*). As divergências morfológicas entre estes grupos de espécies permitiram boas caracterizações, não só por meio de caracteres craniométricos, como por atributos morfológicos penianos e externos. Dentro do procedimento proposto por Mayr, estes grupos de espécies constituiriam *phenas*, ou seja, hipóteses de diversidade de espécies do gênero *Oxymycterus* a serem testadas pela avaliação da compatibilidade

reprodutiva entre cada conjunto de amostras populacionais definido morfologicamente. Em vista das dificuldades de se testar esta hipótese com amostras alopátridas, somente a análise de amostras simpátridas de populações pertencentes à classe grande atlântica forneceria uma evidência mais direta de isolamento reprodutivo ou coesão genética.

Deste modo, as duas formas de Viçosa, Minas Gerais, por ocorrerem em simpatria, se mostraram úteis na avaliação de um primeiro conjunto de hipóteses sobre a diversidade de espécies da classe grande no Brasil oriental. Estas hipóteses foram enunciadas anteriormente como:

H₀ - as populações do Brasil oriental pertencentes à classe grande de Hershkovitz constituem representantes de uma mesma espécie (Hershkovitz, 1994), ou;

H_A - estas populações representam mais de uma espécie (Oliveira, 1998).

Além das distinções na coloração das pelagens enfatizadas para identificação das formas simpátridas de Viçosa, um conjunto de caracteres não-correlacionados fornecidos por estruturas cranianas e reprodutivas revelou descontinuidades entre as duas formas simpátridas. As análises de variação em haplótipos do citocromo *b* evidenciaram divergências genéticas entre as duas formas de Viçosa que são comparáveis a níveis médios de diferenciação genética interespecífica obtidos dentro do gênero, atingindo níveis de 0,077 a 0,092K2p de distância genética. Portanto, as evidências morfológicas e moleculares indicam um isolamento genético entre as duas formas simpátridas, sugerindo a existência de no mínimo duas espécies biológicas dentro da classe grande da divisão atlântica do gênero, refutando a hipótese nula (H₀).

Estes resultados refutam as visões de Hershkovitz (1994) e dos outros autores anteriores, que propuseram uma interpretação mais simplificada da diversidade do gênero. A proposição das condições de pelagem avermelhada e marrom-escuro como polimorfismos intrapopulacionais não é suportada pelos conjuntos de caracteres cranianos e reprodutivos analisados neste trabalho. As análises filogenéticas de haplótipos do citocromo *b* também demonstraram que a forma avermelhada não constitui uma espécie irmã da forma escura, sendo que as duas espécies se agrupam em clados bem divergentes nas árvores obtidas por todos os métodos de análise, o que sugere que cada espécie de Viçosa teria se originado por processos independentes de especiação.

3.1.2 ALOCAÇÃO TAXONÔMICA DAS FORMAS SIMPÁTRIDAS E VALIDADE DAS FORMAS NOMINAIS

Uma questão central na taxonomia do gênero *Oxymycterus* reside na associação *rufus-dasytrichus*. Propostos tradicionalmente como sinônimos por vários autores, estes nomes representam amostras provindas de regiões geograficamente bem distanciadas. *Mus rufus* Fischer, 1814 foi baseada em um exemplar obtido de localidade desconhecida, restringida por Hershkovitz (1994) ao norte da província de Entre Rios, Argentina. *Mus dasytrichus* Schinz, 1821 foi descrita com base em espécimes coletados em Camamú, Bahia, durante a expedição do Príncipe Maximiliano Wied, que mais tarde descreveu *Hypudaeus dasytrichus* do baixo Mucuri, Bahia, ressaltando que este último exemplar se trataria da mesma espécie do exemplar anterior de Camamú. A associação de *dasytrichus* e *rufus* foi contestada primeiramente por Oliveira (1998), cujas análises revelaram cada uma destas formas como integrantes de grupos de espécies bem diferenciados morfologicamente e geograficamente. As propostas de Hershkovitz (1994) e Oliveira (1998) sobre a relação entre as formas nominais da classe grande do Brasil constituem hipóteses taxonômicas que foram anteriormente enunciadas neste trabalho como:

H₂ – as formas nominais da classe “grande” do Brasil oriental se encontram associadas à *O. rufus*, constituindo sinônimos juniores (tendência seguida pela maioria dos autores incluindo Hershkovitz).

H₃ – as formas nominais da classe “grande” do Brasil oriental não se encontram associadas a *O. rufus*, constituindo unidades taxonômicas válidas e independentes desta forma, como os grupos *dasytrichus* e *judex*, e estes formariam unidades taxonômicas distintas em relação (proposta de Oliveira).

As análises morfométricas de agrupamento sugeriram a alocação das formas escura e avermelhada de Viçosa aos grupos *dasytrichus* e *rufus*, respectivamente, sendo esta alocação corroborada por outros conjuntos morfológicos e moleculares de caracteres. Além de similaridades nos padrões craniométricos de forma e tamanho, condições de caracteres qualitativos relacionados ao crânio e à genitália masculina também são compartilhadas entre as formas simpátridas de Viçosa e seus respectivos grupos de espécies mais relacionados.

Os padrões de divergência molecular evidenciaram um clado bem suportado formado pela forma avermelhada de Viçosa e por representantes argentinos do grupo *rufus*, enquanto que a forma escura se associou em todas as análises com a amostra representante do grupo *dasytrichus* do Espírito Santo, apesar de uma amostra da Bahia deste grupo de espécies raramente se associar a este clado. Este padrão implicaria na parafilia do grupo *dasytrichus*, que será discutida mais adiante, mas de qualquer modo não deixa de sugerir que os grupos *dasytrichus* e *rufus* constituem unidades taxonômicas bem divergentes. Estes dois nomes, portanto, são válidos em vista das alocações fornecidas pelos conjuntos independentes de caracteres e pelo status taxonômicos das formas de Viçosa, o que leva à rejeição de H₂.

Oliveira (1998) postulou que os grupos de espécies dentro do gênero se apresentariam geograficamente consistentes. No caso do grupo *dasytrichus*, este padrão é corroborado pela alocação da forma escura de Viçosa a este grupo de espécies mais próximo geograficamente. No entanto, a alocação da forma avermelhada ao grupo *rufus* refuta a consistência geográfica deste segundo grupo de espécies.

Outras amostras de Minas Gerais e Espírito Santo referidas por Winge (1887) e HersHKovitz (1998) como *O. rufus* apresentam caracteres cranianos característicos de representantes do grupo *dasytrichus*, constituindo portanto casos de identificação errônea. Em vista destes resultados, a forma de Viçosa, juntamente com os dois indivíduos de Ouro Preto-MG alocados a ela, representaria a extensão mais setentrional do grupo *rufus*. A partir das amostras de *Oxymycterus* analisadas até o momento, estas duas amostras notavelmente constituem as únicas representantes do grupo *rufus* em território brasileiro, encontrando-se separada da maioria dos integrantes argentinos do grupo por uma distância de aproximadamente 1500km. As amostras de *Oxymycterus* do interior dos Estados de São Paulo e Paraná, geograficamente intermediárias em relação a Minas Gerais e Argentina, representam membros dos grupos *delator*, *judex* e *nasutus* segundo Oliveira (1998). As análises morfológicas envolveram somente representantes do grupo *judex*, entretanto, as análises moleculares abrangeram os demais grupos de espécies (*delator* e *nasutus*) ocorrentes no sudeste do Brasil corroborando a alocação da forma de Viçosa ao grupo *rufus*, reforçando o padrão descontínuo de distribuição geográfica deste grupo.

Outro resultado importante das análises morfológicas e moleculares consistiu na afinidade da amostra de Teresópolis representando o grupo *judex* em relação às formas de Viçosa e aos grupos *rufus* e *dasytrichus*. Esta amostra se mostrou consideravelmente divergente das formas simpátricas e dos dois grupos de espécies nas análises morfométricas sugerindo sua dissociação dos grupos *dasytrichus* e *rufus*. Nas análises moleculares, esta amostra se agrupou fracamente com o grupo *rufus* formando um clado mal suportado nas análises de parcimônia (<70%), o que em combinação às evidências morfológicas sugere sua diferenciação como uma unidade evolutivamente independente dos grupos *rufus* ou *dasytrichus*.

Representantes de *Oxymycterus* da região de Teresópolis e Nova Friburgo, Rio de Janeiro, foram estudados primeiramente por Burmeister (1859), que além de tratar o epíteto *dasytrichus* como um sinônimo júnior, associou estes exemplares com *O. rufus*. Oliveira (1998) alocou indivíduos desta região ao grupo *judex*, tratando-os pelo binômio *O. quaestor* devido a similaridades cranianas com a série-tipo obtida em Roça Nova, Paraná e ainda considerou a possibilidade destes indivíduos constituírem duas espécies. As evidências presentes refutam a proposta de Burmeister de que as formas de Teresópolis e Nova Friburgo representariam *rufus* e a variabilidade morfométrica desta amostra revelou certa heterogeneidade nesta amostra. As análises de amostras maiores desta região deverão fornecer evidências para se testar a existência de mais de uma espécie dentro desta unidade taxonômica.

3.1.3 IDENTIDADE TAXONÔMICA DAS FORMAS SIMPÁTRIDAS

grupo *dasytrichus*

O grupo *dasytrichus* foi proposto por Oliveira (1998) para incluir as formas nominais *O. dasytrichus* e *O. roberti*, abrangendo amostras distribuídas nos Estados da Bahia, Minas Gerais, Goiás, Espírito Santo, Rio de Janeiro e São Paulo. As análises morfométricas de Oliveira (1998) e deste estudo evidenciaram grande contigüidade morfológica ao longo das amostras geográficas do grupo, incluindo a forma escura de Viçosa, Minas Gerais. Um gradiente norte-sul de incremento nas dimensões cranianas foi evidenciado nas análises, onde as amostras mais meridionais de Ubatuba e Ilha Grande apresentaram os maiores valores para a maior parte dos caracteres cranianos. Dentre estas duas amostras, indivíduos de Ilha Grande se apresentaram ainda maiores do que os exemplares continentais de Ubatuba. Este padrão de aumento geral no tamanho em populações de ilhas tem sido reportado para outras espécies de mamíferos (Patterson & Atmar, 1988; Pessôa & Reis, 1994). Como exemplo, Pessôa & Reis (1994) constataram que a amostra populacional de *Trinomys iheringi* da Ilha de São Sebastião, São Paulo, se destacou dos demais representantes do continente principalmente no componente tamanho.

A amostra de Ilha Grande e as amostras mais setentrionais do grupo se encontram conectadas pelo contínuo morfométrico incluindo a amostra de Cairu, Bahia, representante de *O. dasytrichus*. *O. roberti* da região mais interior de Minas Gerais, apesar de ter sido discriminada como uma unidade taxonômica separada nas análises de Oliveira (1998), não se segregou do grande grupo de amostras mais orientais na presente análise. No entanto, o número de exemplares representantes de *O. roberti* examinados neste trabalho foi bem menor do que aquele analisado por Oliveira, o que pode ter ocasionado um erro do tipo II, diminuindo o poder estatístico das análises discriminantes (Sokal & Rohlf, 1995). De qualquer modo, as tonalidades da pelagem de indivíduos da forma escura de Viçosa se assemelham às aquelas apresentadas por amostras do Espírito Santo e Rio de Janeiro, e esta forma permanece associada com as populações mais orientais do grupo *dasytrichus*. *O. roberti* fica portanto restrito a série-tipo de Araguari, Minas Gerais, e Anápolis, Goiás, seguindo a proposta de Oliveira (1998). A presença de

indivíduos de Passos, Minas Gerais, de tonalidades intermediárias de pelagem (marrom mais claro do que os exemplares de Viçosa) e os resultados das análises discriminantes e de distribuição de caracteres sugerem um padrão emergente de contigüidade morfológica entre *O. roberti* e *O. dasytrichus* que deve ser investigado através de outros marcadores.

As análises moleculares de certo modo se mostraram incongruentes com a associação da amostra da Bahia com as amostras de Viçosa e Espírito Santo inferida pelas análises morfométricas. Apenas estas duas últimas amostras formaram um clado moderadamente consistente, enquanto que a amostra da Bahia permaneceu como uma linhagem divergente localizada na politomia basal do gênero. De fato, as distâncias genéticas entre estas três amostras evidenciam a população da Bahia como mais divergente (0,059-0,088K2p). Um nível de divergência moderado também foi apresentado entre a forma escura de Viçosa e a amostra do Espírito Santo (0,055K2p).

Com o objetivo de quantificar precisamente a correlação entre os conjuntos morfológicos e moleculares de caracteres na diferenciação entre as amostras, o teste de Mantel (Mantel, 1967) foi implementado, considerando a matriz de distâncias genéticas corrigidas (K2p) e a matriz de distâncias Mahalanobis (medindo o nível de divergência morfológica). Os resultados não indicaram correlação significativa entre estes dois tipos de distância ($r=0,80$; $p=0,1667$), fortalecendo o fato de que a variabilidade morfológica do grupo *dasytrichus* não reflete a variabilidade genética sugerida pelo citocromo *b*. A ausência de correlação entre as distâncias genéticas e a diferenciação morfométrica pode ser atribuída à diferenciação genética mais acentuada da amostra da Bahia em relação às amostras do sudeste do Brasil (Venda Nova do Imigrante, ES e Viçosa, MG).

De certo modo, seria esperado que a análise de marcadores moleculares revelasse maior variabilidade do que as análises de estruturas morfológicas devido ao número de caracteres abrangidos por cada método (Givnish & Sytsma, 1997). Entretanto, os níveis de diferenciação genética entre as amostras do grupo *dasytrichus* são similares aos níveis de divergência constatados entre espécies de grupos de espécies distintos, o que merece maior consideração.

Duas hipóteses poderiam explicar a divergência genética considerável entre as amostras do grupo *dasytrichus*: (1) estas amostras constituem extremos da distribuição geográfica de uma única espécie, ou (2) as amostras da Bahia e do sudeste do Brasil

constituem mais de uma espécie. A primeira hipótese é fundamentada no modelo de isolamento pela distância desenvolvido por Wright (1943) e corroborado empiricamente em estudos de amostras populacionais geograficamente distantes (revisto por de Queiroz & Good, 1997). O fundamentação deste modelo consiste no fato de que em amostras populacionais de uma mesma espécie, o nível de diferenciação genética entre elas é relacionado à magnitude de fluxo gênico existente (Wright, 1943). O fluxo gênico é considerado como uma força homogenizadora entre subgrupos populacionais de uma espécie (Slatkin, 1985). Entretanto, o distanciamento geográfico excessivo entre amostras pode ocasionar uma redução no intercâmbio genético devido à descontinuidade na migração de indivíduos por geração. Considerando a distância geográfica como um fator restritivo ao fluxo gênico, seria esperado que a divergência genética entre subgrupos de uma espécie fosse correlacionada ao grau de isolamento entre elas, no caso, a distância geográfica. Na hipótese das amostras representarem espécies distintas, a ausência de fluxo gênico entre elas implicaria na ausência de correlação entre a distância geográfica e a diferenciação genética, já que as amostras já possuem padrões de variação genética independentes (de Queiroz & Good, 1997).

O teste de Mantel (Mantel, 1967) foi então realizado para verificar a correlação entre a divergência genética ($K2p$) e o distanciamento geográfico (Km) entre as amostras no sentido de testar as duas hipóteses de diferenciação. Os resultados do teste revelaram uma correlação não significativa entre as duas distâncias ($r=0,52$; $p=0,3333$), sugerindo que as amostras do grupo *dasytrichus* apresentariam uma estruturação geográfica mais acentuada do que aquela esperada por populações de uma mesma espécie separadas ao longo do espaço geográfico. Este resultado suportaria o *status* da amostra da Bahia como uma espécie distinta em relação às amostras do Espírito Santo e Minas Gerais. Neste caso, o nome *dasytrichus* ficaria restrito a amostras da região de Cairu e Camamú (localidade-tipo), enquanto que *O. rostellatus* permaneceria disponível para o conjunto de amostras do sudeste.

Entretanto, as amostras de localidades do sul da Bahia são escassas em coleções e a variabilidade morfológica e genética destas populações se encontra pouco representada nas análises deste trabalho, o que dificulta uma conclusão mais precisa sobre a aplicabilidade do nome *dasytrichus* às populações atlânticas. Por enquanto, as evidências

moleculares para o grupo *dasytrichus* podem ser interpretadas como indicativos de maior diferenciação geográfica entre amostras do que aquela revelada pelas análises morfológicas.

O posicionamento filogenético do grupo *dasytrichus* sugere que os integrantes deste grupo teriam se originado em um primeiro episódio de cladogênese do gênero, constituindo linhagens mais antigas em relação aos grupos *rufus*, *paramensis*, *juliaceae* ou *judex*. A maior antiguidade do grupo *dasytrichus* seria coerente com o fato deste grupo de espécies apresentar uma maior variabilidade genética (distância genética entre amostras geográficas). A divergência genética verificada no grupo *dasytrichus* sugere a presença de demes ou metapopulações bem diferenciadas e geograficamente estruturadas, propriedades adquiridas durante uma história evolutiva mais longa deste grupo no sudeste do Brasil. O estudo de um maior número de amostras da região sul da Bahia permitirá inferências mais acertadas sobre a relação entre as amostras deste Estado e as populações do sudeste do Brasil.

grupo *rufus*

As análises morfológicas e moleculares deste grupo foram congruentes em revelar dois conjuntos geográficos, um constituído por amostras argentinas e o outro formado pela forma avermelhada de Minas Gerais. As análises filogenéticas sugerem a monofilia para estes dois conjuntos, apesar do grupo argentino apresentar um suporte reduzido nas análises de parcimônia (65-61%). Duas questões permanecem em vista da alocação da forma avermelhada a este grupo e da variabilidade apresentada por amostras argentinas. A primeira concerne à natureza politípica das amostras argentinas devido ao espectro de variação em caracteres de pelagem, e a segunda diz respeito à diferenciação da forma avermelhada como uma espécie dentro do grupo *rufus*. A variabilidade do conjunto de amostras argentinas é discutida primeiramente.

As amostras argentinas apresentam amplo espectro de variação em caracteres de pelagem, o que influenciou alguns autores na interpretação taxonômica deste conjunto de populações. A variabilidade de caracteres de pelagem foi enfatizada por Thomas (1914) na descrição de *O. platensis* de Punta Lara, Buenos Aires, e mais tarde considerada também por Oliveira (1998) na definição de três subespécies dentro do conjunto de

populações argentinas. Como adiantado anteriormente, as diferenças em caracteres de pelagem aparentemente não são suportadas por evidências independentes provindas das análises morfométricas e moleculares. Estas análises revelam níveis baixos de variabilidade morfométrica e molecular entre as amostras geográficas das Províncias de Córdoba, Buenos Aires e Entre Rios, que por sua vez exibem ampla variação cromática.

Vários trabalhos têm demonstrado uma correlação das condições da pelagem de mamíferos com fatores ambientais, o que enfraquece seu valor taxonômico já que estes caracteres constituiriam fenótipos ecologicamente plásticos. HersHKovitz (1968) sugeriu que padrões de coloração na pelagem de primatas do gênero *Callithrix* (Callithrichidae) estariam relacionados a gradientes de umidade, onde as formas mais melânicas estariam associadas a enclaves de florestas mais úmidas. Patton & Smith (1990), analisando populações de roedores do gênero *Thomomys* (Geomyidae), também demonstraram que os caracteres de pelagem apresentam correlação com diferentes colorações do solo, fenômeno sugerido também para tuco-tucos (*Ctenomys torquatus*) por Freitas & Lessa (1984). Smith *et al.* (2001) finalmente destacaram que alguns fenótipos em roedores do gênero *Abrothrix* são dissociados de padrões históricos de relacionamento entre indivíduos inferidos pela análise de haplótipos de DNA mitocondrial. Estes autores demonstraram que as variações em tamanho corporal e em tonalidades da pelagem na verdade refletem diferenças produzidas por gradientes ambientais, onde indivíduos com fenótipos distintos se mostraram freqüentemente mais relacionados entre si do que com aqueles de fenótipos similares.

Similarmente, os padrões de coloração e relacionamento filogenético apresentados por indivíduos de Córdoba evidenciam que exemplares cromaticamente similares não formam um clado monofilético, sendo que um dos indivíduos de Córdoba permanece em uma politomia juntamente com um exemplar de Buenos Aires, cromaticamente distinto (Figuras 2.4 e 2.5). Além disso, a forma avermelhada de Viçosa, que apresenta padrão de coloração similar a amostras de Buenos Aires, encontra-se mais diferenciada geneticamente e morfometricamente do que qualquer extremo de coloração de pelagem representado pelas amostras argentinas. Portanto, as similaridades em caracteres de pelagem entre membros do grupo *rufus* podem ser desconsiderados como marcadores taxonômicos e o conjunto argentino de amostras pode ser assumido como uma espécie

geneticamente homogênea sob a luz dos padrões de divergência molecular e morfométrica.

A forma avermelhada divergiu do conjunto argentino nas análises morfométricas e se mostrou caracterizada por uma combinação única de condições da largura da caixa craniana, comprimento da ponte palatal e morfologia palatal, que garante a identificação correta da amostra de Viçosa dentro do grupo *rufus* em 95% das vezes. Além disso, a forma avermelhada está separada por cerca de 2000km da amostra argentina mais próxima, aparentemente isolada geograficamente.

Duas evidências se contrapõem, entretanto, ao postulado de diferenciação específica entre a forma de Viçosa e o conjunto de amostras argentinas. Uma delas é a congruência da variabilidade morfométrica com a disposição geográfica das amostras. A divergência morfométrica da forma avermelhada em relação às populações argentinas poderia resultar de uma amostragem de extremos geográficos do grupo *rufus* (norte e sul), devido à ausência de amostras geograficamente intermediárias (de Queiroz & Good, 1997). Esta hipótese foi avaliada pela verificação da correlação entre a divergência morfológica e a distância geográfica entre amostras. O teste de Mantel revelou que a correlação entre as distâncias de Mahalanobis (divergência morfológica) e geográficas é significativa ($r=0,77$; $p<0,0014$), o que, ao contrário do padrão revelado para o grupo *dasytrichus*, sugere um modelo de diferenciação devido ao isolamento pela distância (de Queiroz & Good, 1997; Wright, 1943). A hipótese de que as diferenças em caracteres de comprimento da ponte palatal, largura da caixa craniana seriam expressões de um extremo geográfico de uma espécie não pode ser refutada em vista da adequação das distâncias de Mahalanobis a este modelo. Além disso, a análise da distribuição de condições morfológicas do palato evidenciou que a condição de palato curto, fixada na amostra de Viçosa, está presente em outras populações argentinas, sugerindo uma distribuição ampla deste morfótipo como resultado de um contato genético ainda recente entre as populações integrantes do grupo *rufus*.

A segunda evidência consiste na distância genética reduzida entre o clado formado por amostras argentinas e a forma avermelhada, que variou de níveis de 0,022 a 0,039K2p, valores abaixo dos níveis de diferenciação apresentados entre espécies simpátricas de Viçosa (0,077K2p) ou do valor médio exibido entre espécies reconhecidas

do gênero (0,075K2p). As magnitudes de divergências genéticas têm sido utilizadas para inferências de limites entre espécies (Highton, 1989; Smith & Patton, 1993; Smith & Patton, 1999), apesar de algumas críticas (Frost & Hillis, 1990; Sites Jr& Crandall, 1997). A interpretação mais coerente dos padrões de divergência entre haplótipos mitocondriais consiste na identificação de pequenas demes ou metapopulações, produtos do processo de estruturação geográfica de uma espécie (Avice, 1995; Sites Jr& Crandall, 1997). Neste contexto, as evidências moleculares revelam que a forma avermelhada de Viçosa constitui apenas uma deme dentro de uma unidade evolutiva formada por ela e pelas amostras do nordeste argentino. Os padrões de divergência morfológica em conjunto com as evidências moleculares sugerem portanto, que o grupo *rufus* incluindo a forma avermelhada representa uma única espécie com uma estruturação geográfica recente ocasionada por isolamento pela distância.

Oliveira (1998; p.275) não alocou nenhuma amostra de *Oxymycterus* proveniente dos Estados de São Paulo e Paraná ou da Província de Misiones a *O. rufus* e as lacunas na distribuição geográfica desta espécie permanecem até que novos indivíduos geograficamente intermediários sejam coletados e identificados como membros deste grupo de espécies. A ausência de populações geograficamente intermediárias desta espécie não significa que estas populações não existam.

3.2 CONSIDERAÇÕES BIOGEOGRÁFICAS

A alocação da forma avermelhada de Minas Gerais como uma nova população de *Oxymycterus rufus* implica na suposição de uma conexão biogeográfica entre a região sudeste do Brasil (Minas Gerais) e as regiões nordeste e leste da Argentina. Desta forma, a discussão sobre a evolução da distribuição geográfica de *O. rufus* fica centrada em duas questões básicas: (1) os fatores ambientais relacionados com a ocorrência desta espécie e (2) os eventos históricos que teriam moldado sua distribuição geográfica presente.

A ecologia de populações de *O. rufus* tem sido estudada na região do Delta do Paraná, Buenos Aires, e em Viçosa, Minas Gerais, e fornece informações interessantes para a discussão da primeira questão. As evidências reunidas sobre os microhabitats utilizados por populações de roedores na região do Delta do Paraná indicam que *O. rufus*

apresenta maior densidade de indivíduos em habitats de vegetação aberta, que são caracterizados por densa cobertura vegetal herbácea constituída principalmente pelas monocotiledôneas *Cortadeira selloana* e *Bacharis spicata*, formando paisagens campestres típicas da região pampeana de Buenos Aires (Bonaventura et al., 1991; Burkart, 1957; Cueto et al., 1995). Este tipo de habitat se assemelha estruturalmente com os sítios onde as duas espécies simpátricas têm sido coletadas em Viçosa, Minas Gerais, que também são caracterizados por densa cobertura vegetal herbácea, sendo dominados pela gramínea exótica *Melinis minutiflora* (capim-gordura) (Paglia et al., 1995; Lessa et al., 1999) (Figura 3.1). Os estudos das populações argentinas e brasileiras também revelaram que os indivíduos de *Oxymycterus* raramente foram coletados em ambientes florestados, sugerindo que *O. rufus* estaria relacionada a formações de vegetação aberta. Entretanto, esta afirmação não deve ser interpretada como a causa principal da presença de *O. rufus* no sudeste de Minas Gerais e sim como uma característica ecológica desta espécie. É importante ressaltar que *O. rufus* não tem sido reportada em habitats de savana do domínio morfoclimático do Cerrado, onde formas do grupo *delator* ocorrem amplamente (Oliveira, 1998), fortalecendo a influência de fatores históricos na distribuição geográfica de *O. rufus* nas savanas mais orientais de Minas Gerais.

A relação entre as populações de Minas Gerais e do nordeste e leste da Argentina e suas associações com habitats de savana sugerem que a evolução da distribuição geográfica desta espécie estaria relacionada com a expansão e retração de formações campestres nas regiões sul e sudeste da América do Sul durante períodos históricos de queda de temperatura e umidade. A evolução das savanas tem sido considerada como um dos fatores chave no entendimento da biogeografia dos roedores sigmodontíneos, principalmente considerando as formas “tetralofodontes” pastorais, dentre as quais o gênero *Oxymycterus* está incluído (Marshall, 1979; Voss & Myers, 1991). Marshall (1979) postulou que a penetração da fauna de sigmodontíneos tetralofodontes na América do Sul teria sido influenciada pelas expansões dos domínios de vegetação aberta ao longo do primeiro período glacial ocorrido há 3,5 milhões de anos atrás. Corredores de savanas teriam se expandido pelas regiões central, oriental e meridional da América do Sul, favorecendo o intercâmbio de componentes faunísticos relacionados a este tipo de formação durante o Pleistoceno (Marshall, 1979).

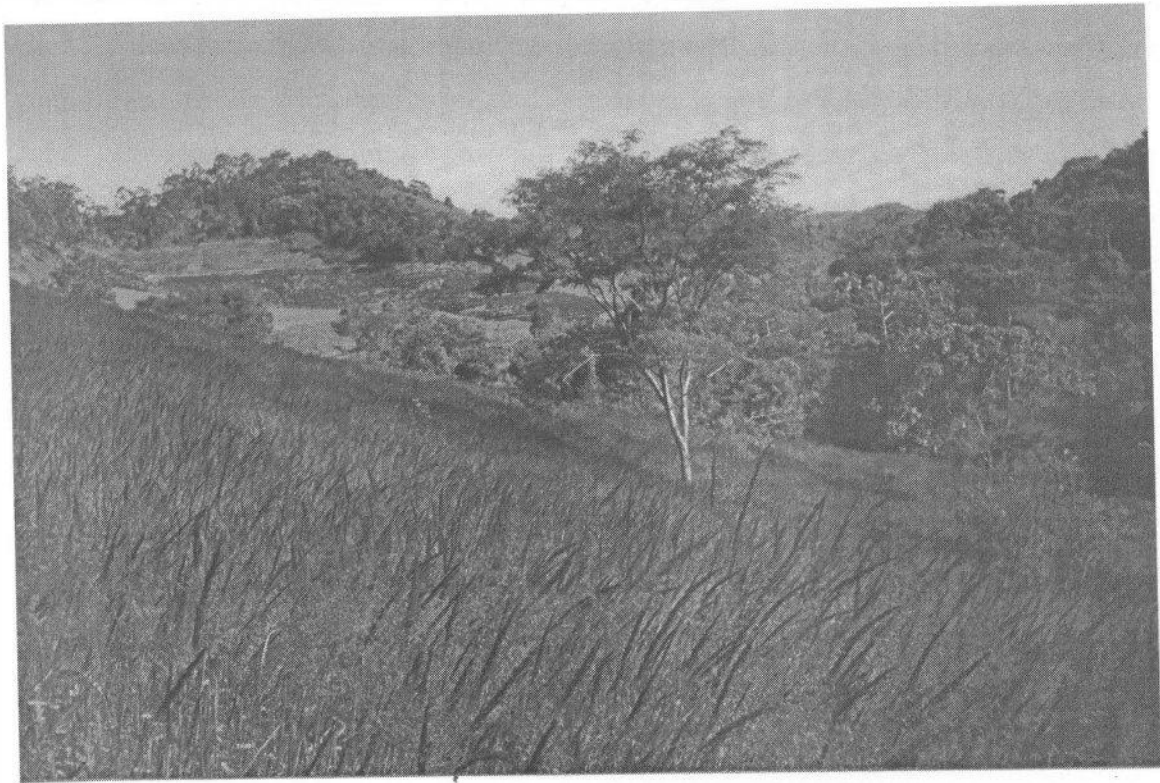


Figura 3.1. Tipo de hábitat da Mata do Paraíso, Viçosa, Minas Gerais, onde indivíduos de *Oxymycterus rufus* e *O. dasytrichus* são frequentemente capturados.

O período compreendido pelo Pleistoceno-tardio e início do Holoceno na América do Sul foi caracterizado pelo último período glacial máximo, finalizado há cerca de 18.000 anos (Ab'Saber, 1977; Haffer, 1969), e por um posterior aumento gradual da umidade. Este período de aumento de umidade e temperatura foi interrompido por breves episódios de seca ocorridos entre 7000 e 4000 anos atrás, onde porções de savanas ainda persistiram em regiões do centro e sudeste do Brasil, como evidenciado por registros palinológicos de Serra Negra, Salitre e Catas Altas, áreas do Brasil central e de Minas Gerais (Behling & Lichte, 1997; Ledru et al., 1996). Após o término deste episódio de seca, a floresta tropical semidecídua teria finalmente ocupado áreas antes dominadas por formações mais abertas, incluindo regiões do complexo da Serra da Mantiqueira, onde Viçosa e Ouro Preto estão inseridas (Ledru et al., 1996; Behling & Lichte, 1997). De acordo com este cenário, um corredor conectando a região sudeste de Minas Gerais e o nordeste argentino poderia ter se formado em dois episódios de seca: (1) durante o último período glacial máximo (finalizado há cerca de 18.000 anos) ou (2) durante o breve

episódio há 7000-4000 anos. Após o respectivo término destes períodos, processos de retração das formações abertas teriam ocasionado um isolamento geográfico parcial entre populações resultando no padrão atual de estruturação geográfica de *O. rufus*.

Estudos sedimentológicos na região do Alto Paraná (pontal do Paranapanema, São Paulo), área geograficamente intermediária entre Minas Gerais e o nordeste argentino, sugerem que o último período de seca nesta região teria se iniciado há 3500 anos e perdurado até 1500 anos atrás, o que não concorda com a ocorrência do breve período seco de localidades do sudeste brasileiro de 7000 a 4000 anos atrás (Stevaux, 2000). As evidências paleoclimatológicas do Alto Paraná indicam que um corredor conectando as populações de Minas Gerais e Argentina poderia ter se formado há cerca de 3500 anos, podendo este constituir um terceiro episódio de expansão e estruturação de *O. rufus*.

Com o objetivo de se avaliar especificamente qual episódio climático teria precedido o processo de estruturação das populações de *O. rufus*, as diferenças percentuais de transversões da terceira base entre haplótipos do *cyt b* de populações de Minas Gerais e da Argentina foram interpretadas como indicadoras do tempo de divergência e isolamento entre estes dois componentes, datando o momento em que a estruturação geográfica entre as populações teria ocorrido. Para calibrar a evolução de transversões da terceira base ao longo do tempo, duas taxas de evolução de roedores foram consideradas. A primeira taxa foi proposta por Smith & Patton (1993) para roedores sigmodontíneos, consistindo de 2,3% de diferenças a cada 1 milhão de anos com base na data de divergência entre *Akodon* e *Bolomys* (Reig, 1987). A segunda, mais conservativa, foi baseada na estimativa da divergência entre *Mus* e *Rattus* (Catzefflis et al., 1992), consistindo de 1,7% de diferenciação a cada 1 milhão de anos (Smith & Patton, 1993).

Considerando a taxa de Smith & Patton (1993), a segregação entre as populações de Minas Gerais e Argentina teria ocorrido por volta de 2680 anos atrás, um momento não suportado pelas histórias climatológicas do Alto Paraná (Stevaux, 2000) ou do Brasil oriental (Ledru *et al.*, 1996; Behling & Lichte, 1997). Considerando a taxa mais conservativa de 1,7%, a segregação entre as populações é sugerida para cerca de 3630 anos atrás, concordando com o término do episódio de seca detectado pelos estudos palinológicos no centro e sudeste do Brasil (7000-4000 anos atrás).

Notavelmente, a taxa de evolução mais conservativa estimada para murídeos possui maior respaldo das evidências paleoclimáticas disponíveis do que a taxa estimada para roedores sigmodontíneos. Este fato se deve possivelmente a acurácia na estimativa da divergência entre os conjuntos populacionais de *O. rufus* e a diferentes taxas de evolução do citocromo *b* entre linhagens de roedores (Spradling et al., 2001). De qualquer modo, as evidências moleculares e biogeográficas, no momento, tentativamente sugerem que *O. rufus* teria se distribuído pelo sudeste brasileiro, nordeste e sudeste argentino do final do Pleistoceno até o início do Holoceno, quando há cerca de 3700 anos atrás, a expansão de florestas tropicais semidecíduas teria ocasionado um padrão mais pontual de distribuição de *O. rufus* no sudeste do Brasil.

A distribuição anteriormente mais ampla de *O. rufus* no sudeste do Brasil poderia ser verificada através da investigação dos registros fósseis de roedores das grutas calcáreas de Lagoa Santa, Minas Gerais, dentre os quais esta espécie estaria representada no caso de validade destas suposições paleobiogeográficas. De qualquer modo, a distribuição geográfica desta espécie no Brasil é pouco conhecida e a descoberta de novas populações de *O. rufus* no Brasil podem alterar este cenário.

O contraste do padrão de distribuição de *O. rufus* com o de outros roedores sigmodontíneos também contribuiria no teste da hipótese biogeográfica enunciada aqui. Neste contexto, o gênero *Bibimys* possui um padrão biogeográfico similar ao de *O. rufus*, sendo que *B. labiosus*, ocorrente em Viçosa e Lagoa Santa, Minas Gerais (Paglia et al., 1995; Gonçalves et al. [submetido]) está separado de seus congêneres pampeanos, *Bibimys torresi* e *B. chacoensis*, por um hiato geográfico de cerca de 1500km. Análises de padrões de divergência molecular entre estas espécies forneceriam evidências adicionais para comparação com os padrões obtidos para *O. rufus* e correlação com eventos climáticos no sudeste do Brasil e nordeste da Argentina.

CONCLUSÕES GERAIS

- 1) As duas formas simpátricas de Viçosa constituem duas espécies biológicas, geneticamente e evolutivamente independentes, refutando a hipótese nula de existência de uma única espécie da classe grande no sudeste do Brasil;
- 2) As duas espécies simpátricas de Viçosa se alocaram aos grupos de espécies *dasytrichus* e *rufus*, conseqüentemente corroborando estes nomes como unidades taxonômicas válidas e refutando a tendência cunhada ao longo dos anos de que *dasytrichus* consistiria em um sinônimo júnior de *rufus*.
- 3) As amostras do sudeste do Brasil referidas por Winge (1887) e Hershkovitz (1998) à *O. rufus* constituem na verdade representantes do grupo *dasytrichus*, restringindo a afinidade de amostras brasileiras com *O. rufus* somente à forma avermelhada de Viçosa e Ouro Preto, Minas Gerais.
- 4) A alocação da forma avermelhada de Viçosa ao grupo *rufus* sugere um padrão descontínuo de distribuição geográfica para este grupo de espécies, sendo que representantes geograficamente intermediários não têm sido reportadas até o momento.
- 5) A forma escura de Viçosa está inserida dentro de um gradiente norte-sul de incremento nas dimensões cranianas, junto com populações costeiras referidas à *O. dasytrichus* e mais interioranas de *O. roberti*. Entretanto, as similaridades em caracteres de pelagem sugerem uma afinidade maior entre a forma escura e as primeiras amostras até o momento.
- 6) A diferenciação genética entre amostras geográficas de *O. dasytrichus* sugere um elevado nível de estruturação geográfica desta espécie, não evidenciada pelas análises morfológicas. A amostra representante de *O. dasytrichus* da Bahia raramente se associa com amostras do sudeste do Brasil, colocando em questão a

identidade taxonômica destas últimas amostras, dentre as quais a forma escura estaria incluída. Entretanto, um maior número de amostras provenientes da Bahia devem ser analisadas com o objetivo de se concluir sobre a identidade taxonômica das amostras alocadas ao grupo *dasytrichus*.

- 7) Fatores históricos como a maior antiguidade das linhagens representantes de *O. dasytrichus* poderiam explicar a maior diferenciação genética desta espécie.
- 8) A forma avermelhada de Viçosa é reciprocamente monofilética em relação ao conjunto de amostras argentinas, que juntos formam um clado consistente suportando a monofilia do grupo *rufus*.
- 9) A divergência morfológica da forma de Viçosa em relação às amostras argentinas é explicada por um modelo de isolamento pela distância, o que junto com a diferenciação genética reduzida sugere a inclusão destes dois conjuntos de amostras dentro da espécie *Oxymycterus rufus*.
- 10) A evolução do padrão de distribuição e estruturação geográfica de *O. rufus* está relacionada a episódios de expansão e retração de formações de vegetação aberta durante os últimos 10.000 anos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Ab'Saber, A. N. 1977. Espaços ocupados pela expansão dos climas secos na América do Sul, por ocasião dos períodos glaciais quaternários. *Paleoclimas*, Universidade de São Paulo, 3: 1-19.
- Allen, J.A. 1916. Mammals collected on the Roosevelt Brazilian Expedition, with field notes by Leo E. Miller. *Bulletin of the American Museum of Natural History*, 35:610.
- Avila-Pires, F.D. 1965. The type specimens of Brazilian mammals collected by Prince Maximilian zu Wied. *American Museum Novitates*, 2209:1-21.
- Avise, J.C. 1995. Mitochondrial DNA polymorphism and a connection between genetics and demography of relevance to conservation. *Conservation Biology*, 9:1192-1208.
- , 2000. *Phylogeography: the history and formation of species*. Harvard University Press, Massachusetts, 447 pp.
- Azara. 1801. *Essais sur l'histoire naturelle des quadrupedes de la Province du Paraguay*. C. Pougens, Paris,
- , 1802. *Apuntamientos para la historia natural de los cuadrúpedos de Paraguay y del Río de La Plata*. Imprenta de la Viuda de Ibarra, Madrid, 328 pp.
- Barros-Battesi, D. M., M. Arzua, P. M. Linardi, J. R. Botelho & I. J. Sbalqueiro. 1998. Interrelationship between ectoparasites and wild rodents from Tijucas do Sul, State of Paraná, Brazil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, Rio de Janeiro, 93:719-725.
- Behling, H. & M. Lichte. 1997. Evidence of dry and cold climatic conditions at glacial times in tropical southeastern Brazil. *Quaternary Research*, 48:348-358.
- Bibb, M.J., R.A. Van Etten, C.T. Wright, M.W. Walberg & D.A. Clayton. 1981. Sequence and gene organization of mouse mitochondrial DNA. *Cell*, 26:167-180.
- Bonaventura, S. M., M. J. Piantanida, L. Gurini & M. I. Sanchez Lopez. 1991. Habitat selection in population of cricetine rodents in the region Delta (Argentina). *Mammalia*, 55:339-354.
- Bonvicino, C. R., A. Langguth, S. M. Lindbergh & A. C. Paula. 1997. An elevational gradient study of small mammals at Caparaó National Park, Southeastern Brazil. *Mammalia*, 61:547-560.
- Bonvicino, C.R. & M.A.M. Moreira. 2001. Molecular phylogeny of the genus *Oryzomys* (Rodentia: Sigmodontinae) based on cytochrome *b* DNA sequences. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 18:282-292.

- Bonvicino, C. R., V. Penna-Firme & H. N. Seuánez. 1998. The karyotype of *Bucepattersonius griserufescens* HersHKovitz, 1998 (Rodentia, Sigmodontinae) with comments on distribution and taxonomy. *Zeitschrift für Säugetierkunde*, 63:329-335.
- Bookstein, B. Chernoff, R. L. Elder, J. M. Humphries, G. R. Smith & R. E. Strauss. 1985. *Morphometrics in Evolutionary Biology: the geometry of size and shape change with examples from fishes*. The Academy of Natural Sciences of Philadelphia, Philadelphia,
- Brandt, R.S. & L.M. Pessôa. 1994. Intrapopulation variability in cranial characters of *Oryzomys subflavus* (Wagner, 1842) (Rodentia: Cricetidae), in northeastern Brazil. *Zoologischer Anzeiger*, 233:45-55.
- Burkart, A. 1957. Ojeada sinoptica sobre la vegetación del Delta del Río Paraná. *Darwiniana*, 11:457-561.
- Burmeister. 1854. *Systematische uebersicht der Thiere Brasiliens, welche während einer Reise surch die Provinzen von Rio de Janeiro und Minas Geraës gesammelt oder beobachtet wurden*. Georg Reimer, Berlin, 341 pp.
- Cabrera, A. 1961. Catalogo de los mamíferos de América del Sur. *Revista del Museo Argentino de Ciencias Naturales "Bernardino Rivadavia"*, Ciencias Zoológicas, 4:309-732.
- Carleton, M. D. 1980. Phylogenetic relationships in Neotomine-Peromyscine rodents (Muroidea) and a reapraisal of the dichotomy within New World Cricetinae. *Miscellaneous Publications Museum of Zoology, University of Michigan*, 157:1-146.
- Carleton, M.D. & G.G. Musser. 1989. Systematic studies of oryzomyine rodents (Muridae, Sigmodontinae): a synopsis of *Microryzomys*. *Bulletin of the American Museum of Natural History*, 191:1-83.
- Catzefflis, F., J.P. Aguiar & J.J. Jaeger. 1992. Muroid rodents: phylogeny and evolution. *Trends in Ecology and Evolution*, 7:122-126.
- Cueto, V. R., M. J. Piantanida & M. Cagnoni. 1995. Population demography of *Oxymycterus rufus* (Rodentia: Cricetidae) inhabiting a patchy environment of the delta of the Paraná River, Argentina. *Acta Theriologica*, 40:123-130.
- Davis, J. I. & K. C. Nixon. 1992. Populations, genetics variation, and the delimitation of phylogenetic species. *Systematic Biology*, 41:421-435.
- DeBlase, A. F. & R. E. Martin. 1981. *A manual of mammalogy with keys to families of the World*. 2a. ed. Wm. C. Brown Company Publishers, Dubuque, 436 pp.

- Dempster, A.P., N.M. Laird & D.B. Rubin. 1977. Maximum likelihood estimation from incomplete data via the EM algorithm. *Journal of the Royal Statistical Society, B* 39:1-38.
- de Queiroz, K. & D.A. Good. 1997. Phenetic clustering in biology: a critique. *The Quarterly Review of Biology*, 72:1-30.
- Efron, B. & R. J. Tibshirani. 1993. *An introduction to the Bootstrap*. Chapman & Hall, New York, 436 pp.
- Ellerman, J. R. 1941. The families and genera of living rodents with a list of named forms by R. W. Hayman & G. W. C. Holt. *British Museum (Natural History)*, Londres.
- Emmons, L. H. 1999. Two new species of *Juscelinomys* (Rodentia: Muridae) from Bolivia. *American Museum Novitates*, 3280:1-15.
- Felsenstein, J. 1985. Confidence limits on phylogenies: an approach using the bootstrap. *Evolution*, 39:783-791.
- Felsenstein, J. 1993. PHYLIP: Phylogenetic inference package, version 3.5c, IBM-PC. Department of Genetics, University of Washington, Seattle. Distribuído pelo autor.
- Fischer, E. G. 1814. *Zoognosia tabulis synopticis illustrata, in usum praelectionum Academiae Imperialis Medico-Chirurgicae Mosquensis. Nicolai Sergeidis Vsevolozsky, Moscou.*
- Freitas, T.R.O. & E.P. Lessa. 1984. Cytogenetics and morphology of *Ctenomys torquatus* (Rodentia: Octodontidae). *Journal of Mammalogy*, 65:637-642.
- Frost, D.R. & D.M. Hillis. 1990. Species in concept and practice: herpetological applications. *Herpetologica*, 46:87-104.
- Givnish, T.J. & K.J. Sytsma. 1997. Consistency, characters, and the likelihood of correct phylogenetic inference. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 7:320-330.
- Gonçalves, P.R., J.A. Oliveira, M.O. Corrêa & L.M. Pessôa. [submetido]. Morphological and cytogenetic analyses of *Bibimys labiosus* (Winge, 1887) (Rodentia, Sigmodontinae): implications for its affinities with the scapteromyine group.
- Graybeal, A. 1995. Naming species. *Systematic Biology*, 44:237-250.
- Gyldenstolpe, N. 1932. A manual of Neotropical sigmodont rodents. *Kungl. Svenska Vetenskapsakademiens Handlingar*, 11:1-164.

- Gyllenstein, V. & H. Erlich. 1988. Generation of single-stranded DNA by the polymerase chain reaction and its applications to direct sequencing of the HLA DQa locus. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA*, 85:7652-7656.
- Haffer, J. 1969. Speciation in amazonian forest birds. *Science*, 165:131-137.
- Henriques, R. P. B. & C. J. R. Alho. 1991. Microhabitat selection by two rodent species in the cerrado of central Brazil. *Mammalia*, 55:49-56.
- Hershkovitz, P. 1966. South American swamp and fossorial rats of the Scapteromyine group (Cricetinae, Muridae) with comments on the glans penis in murid taxonomy. *Zeitschrift für Säugetierkunde*, 31:82-149.
- , 1968. Metachronism or the principle of evolutionary change in mammalian tegumentary colors. *Evolution*, 22:556-575.
- , 1994. The description of a new species of South American hocicudo, or long-nose mouse, genus *Oxymycterus* (Sigmodontinae, Muroidea), with a critical review of the generic content. *Fieldiana Zoology*, 79:1-43.
- , 1998. Report on some sigmodontine rodents collected in southeastern Brazil with descriptions of a new genus and six new species. *Bonner Zoologische Beiträge*, 47:193-256.
- Highton, R. 1989. Biochemical evolution in the slimy salamanders of the *Plethodon glutinosus* complex in eastern United States. Part 1. Geographic protein variation. *Illinois Biological Monographs*, 57:1-153.
- Hillis, D. C. Moritz & B. K. Mable. 1996. *Molecular Systematics*. 2a. ed. Sinauer Associates, Inc., Sunderland, Massachusetts, 655 pp.
- Hinojosa P., F., S. Anderson & J. L. Patton. 1987. Two new species of *Oxymycterus* (Rodentia) from Peru and Bolivia. *American Museum Novitates*, 2898:1-17.
- Hooper, E. T. 1959. The glans penis in five genera of cricetid rodents. *Occasional Papers of the Museum of Zoology, University of Michigan*, 613:1-16.
- Hooper, E. T. & G. G. Musser. 1964. The glans penis in Neotropical cricetines (Family Muridae) with comments on classification of muroid rodents. *Miscellaneous Publications Museum of Zoology, University of Michigan*, 123:1-57.
- Humphries, J.M., F.L. Bookstein, B. Chernoff, G.R. Smith, R.L. Elder & S.G. Poss. 1981. Multivariate discrimination by shape in relation to size. *Systematic Zoology*, 30:291-308.
- Kasahara, S. & Y. Yonenaga-Yassuda. 1984. A progress report of cytogenetic data on brazilian rodents. *Revista Brasileira de Genética*, 7:509-533.

- Kimura, M. 1980. A simple method for estimating evolutionary rates of base substitution through comparative studies of nucleotide sequences. *Evolution*, 16:111-120.
- Kumar, S., K. Tamura & M. Nei. 2000. MEGA: molecular evolutionary genetics analysis, version 2.0. Pennsylvania State University, University Park.
- Langguth, A. 1966. Application to place on the appropriate official list of the names given by G. Fischer 1814 to the cricetid rodents described by Felix de Azara in the French translation of "Essais sur l'histoire naturelle des quadrupedes du Paraguay", 1801. *Z.N.(S.) 1774. Bulletin of Zoological Nomenclature*, 23:285-288.
- Ledru, M.P., P.I.S. Braga, F. Soubiès, M. Fournier, L. Martin, K. Suguio & B. Turcq. 1996. The last 50,000 years in the Neotropics (Southern Brazil): evolution of vegetation and climate. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology*, 123:239-257.
- Lessa, G., P.R. Gonçalves, M.M.Jr. Morais, F.M. Costa, R.F. Pereira & A.P. Paglia. 1999. Caracterização e monitoramento da fauna de pequenos mamíferos terrestres em um fragmento de mata secundária em Viçosa, Minas Gerais. *Bios, Cadernos do Departamento de Ciências Biológicas da PUC Minas*, 7:41-49.
- Lewin, R. 1999. Patterns in evolution: the new molecular view. Scientific American Library, New York, 245 pp.
- Lidicker, W.Z.Jr. 1968. A phylogeny of New Guinea rodent genera based on phallic morphology. *Journal of Morphology*, 49:609-643.
- Manly, B.F.J. 1994. Multivariate statistical methods a primer. 2a. ed. Chapman & Hall, London, 215 pp.
- Mantel, N. 1967. The detection of disease clustering and a generalized regression approach. *Cancer Research*, 27:209-220.
- Marshall, L. G. 1979. A model for paleobiogeography of South American cricetine rodents. *Paleobiology*, 5:126-132.
- Massoia, E. & A. Fornes. 1969. Caracteres comunes y distintivos de *Oxymycterus nasutus* (Waterhouse) y *O. iheringi* Thomas (Rodentia: Cricetidae). *Physis*, 28:315-321.
- Mayr, E. 1963. Populations, species and evolution. Harvard University Press, Cambridge, Massachusetts, 485 pp.
- Mayr, E. & P. D. Ashlock. 1991. Principles of systematic zoology. 2a. ed. . McGraw-Hill, Inc., New York, 475 pp.

- Moojen, J. 1965. Novo gênero de Cricetidae do Brasil Central (Glires, Mammalia). *Revista Brasileira de Biologia*, 25:281-285.
- Musser, G. G. & Carleton. 1993. Family Muridae. Pp. 501-755, *in* Mammal species of the world: a taxonomic and geographic reference (D.E. Wilson & D.H. Reeder, eds.). Smithsonian Institution Press, Washington, Londres.
- Myers, P., B. Lundrigan & P.K. Tucker. 1995. Molecular phylogenetics of oryzomyine rodents: the genus *Oligoryzomys*. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 4:372-382.
- Neff, N. & L. F. Marcus. 1980. A survey of multivariate methods for systematics. privately published, New York, 230 pp.
- Nei, M. 1972. Genetic distance among populations. *American Naturalist*, 106:283-292.
- Oliveira, J.A. 1998. Morphometric assessment of species groups in the South American rodent genus *Oxymycterus* (Sigmodontinae), with taxonomic notes based on the analysis of type material. Tese de Doutorado. Texas Tech University, Lubbock, Texas, 320 pp.
- Oliveira, J.A. & R.E. Strauss. Efeitos da estimação de dados ausentes na detecção de diferenças entre grupos em estudos morfométricos. *Resumos XXI Congresso Brasileiro de Zoologia*, Porto Alegre, RS, 1996.
- Olmos, F. 1991. Observations on the behaviour and population dynamics of some Brazilian Atlantic Forest rodents. *Mammalia*, 55:555-565.
- Paglia, A. P., P. De Marco, F. M. Costa, R. F. Pereira & G. Lessa. 1995. Heterogeneidade estrutural e diversidade de pequenos mamíferos em um fragmento de mata secundária de Minas Gerais, Brasil. *Revista Brasileira de Zoologia*, 12:67-79.
- Patterson, B.D. & V. Atmar. 1988. Nested subsets and the structure of insular mammalian faunas and archipelagos. *Biological Journal of the Linnean Society*, 28:65-82.
- Patton, J.L. & M.F. Smith. 1990. The evolutionary dynamics of the pocket gopher *Thomomys bottae* with emphasis on California populations. University of California Publications, Zoology, 123:1-161.
- Pearson, K. 1901. On lines and planes of closest fit to a system of points in space. *Philosophical Magazine*, 2:557-572.
- Pelzen, A. 1883. Brasilische Säugethiere. result von Natterer's reisen in dem Jahren 1817 bis 1835. *K.K.Zoologisch-botanischen Gesellschaft, Wien*, 33:1-140.

- Peppers, L.L. & R.D. Bradley. 2000. Cryptic species in *Sigmodon hispidus*: evidence from DNA sequences. *Journal of Mammalogy*, 81:332-343.
- Pessôa, L.M., and S.F.d. Reis. 1994. Systematic implications of craniometric variation in *Proechimys iheringi* Thomas (Rodentia: Echimyidae). *Zoologischer Anzeiger*, 232:181-200.
- Pictet, F.-J. 1843. Seconde notice sur les animaux nouveaux ou peu connus du Musée de Genève. *Memoires de la Societe de Physique et d'Histoire Naturelle de Geneve*, 9,10:201-214.
- Reig, O. 1977. A proposed nomenclature for the enamelled components of the molar teeth of the Cricetidae (Rodentia). *Journal of Zoology*, 181:227-241.
- Reig, O. A. 1987. An assessment of the systematics and evolution of the Akodontini, with the description of new fossil species of *Akodon* (Cricetidae: Sigmodontinae). *Fieldiana Zoology*, 39:347-399.
- Reis, S.F.d., L.M. Pessôa & R.E. Strauss. 1990. Application of size-free canonical discriminant analysis to studies of geographic differentiation. *Revista Brasileira de Genética*, 13(3):509-20.
- Rengger, J.R. 1830. *Naturgeschichte der saeugethiere von Paraguay*. Schweighauserschen Buchhandlung, Basel, 394 pp.
- Saitou, N. & M. Nei. 1987. The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. *Molecular Biology and Evolution*, 4:406-425.
- Sambrook, E. F. Fritsch & T. Maniatis. 1989. *Molecular cloning: a laboratory manual*. 2a. ed. Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY,
- Schinz, H. R. 1821. *Das Thierreich eingetheilt nach dem Bau der Thiere als Grundlage ihrer Naturgeschichte und der engleichenden Anatomie von dem Herr Ritter von Cuvier*. 1ed. J. G. Cott'aschen Buchhandlung, Stuttgart und Tübingen, 288 pp.
- Shufeld, R.W. 1926. Observações sobre certos peixes e mamíferos do Brasil e mais particularmente sobre sua osteologia. *Revista Museu Paulista, São Paulo*, 14:503-561.
- Sites, J.W.J. & K.A. Crandall. 1997. Testing species boundaries in biodiversity studies. *Conservation Biology*, 11:1289-1297.
- Slatkin, M. 1985. Gene flow in natural populations. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 16:393-430.
- Smith, L.J., R.C. Braylan, J.E. Nutkis, K.B. Edmundson, J.R. Downing & E.K. Wakeland. 1987. Extraction of cellular DNA from human cells and fixed in ethanol. *Analytical Biochemistry*, 160:135-138.

- Smith, M.F., D.A. Kelt & J.L. Patton. 2001. Testing models of diversification in mice in the *Abrothrix olivaceus/xanthorhinus* complex in Chile and Argentina. *Molecular Ecology*, 10:397-405.
- Smith, M.F. & J.L. Patton. 1993. The diversification of South American murid rodents: evidence from mitochondrial DNA sequence data for the akodontine tribe. *Biological Journal of the Linnean Society*, 50:149-177.
- , 1999. Phylogenetic relationships and the radiation of sigmodontine rodents in South America; evidence from cytochrome b. *Journal of Mammalian Evolution*, 6:89-128.
- Sokal, R. R. & F. J. Rohlf. 1995. *Biometry: the principles and practice of statistics in biological research*. 3a. ed. W. H. Freeman and Company, New York, NY, 887 pp.
- Spotorno, A. E. 1992. Parallel evolution and ontogeny of simple penis among new world cricetid rodents. *Journal of Mammalogy*, 73:504-514.
- Spradling, T.A., M.S. Hafner & J.W. Demastes. 2001. Differences in rate of cytochrome-*b* evolution among species of rodents. *Journal of Mammalogy*, 82:65-80.
- Stevaux, J.C. 2000. Climatic events during the Late Pleistocene and Holocene in the Upper Parana River: correlation with NE Argentina and South-Central Brazil. *Quaternary International*, 72:73-85.
- Strauss, R.E. 1985. Evolutionary allometry and variation in body form in the south american catfish genus *Corydoras* (Callichthyidae). *Systematic Zoology*, 34:381-396.
- Svartman, M. & E.J.C. Almeida. 1993. The karyotype of *Oxymycterus* sp. (Cricetidae, Rodentia) from Central Brazil. *Experientia*, 49:718-720.
- Swofford, D.L. 1993. PAUP: phylogenetic analysis using parsimony. [programa de computador]. 3.1.1. Washington, Smithsonian Institute.
- Swofford et al. 1996. Phylogenetic inference. Pp. 407-514, *in* *Molecular systematics* (D.M. Hillis, C. Moritz & B.K. Mable, eds.). Sinauer Associates, Inc., Sunderland, Massachusetts.
- Tate, G. H. H. 1932. The South American Cricetidae described by Felix Azara. *American Museum Novitates*, 557:1-5.
- Thomas, O. 1884. On a collection of Muridae from central Peru. *Proceedings of the Zoological Society of London*, 447-458.

- , 1896. On the genera of rodents: an attempt to bring up to date the current arrangement of the order. *Proceedings of the Zoological Society of London*, 66:1012-1028.
- , 1900. Descriptions of new rodents from western South America. *Annals and Magazine of Natural History*, 7:294-302.
- , 1901. On mammals obtained by Mr. Alphonse Robert on the Rio Jordão, S.W. Minas Gerais. *Annals and Magazine of Natural History*, 7:526-536.
- , 1902. On mammals from Cochabamba, Bolivia, and the region north of that place. *Annals and Magazine of Natural History*, 9:123-143.
- , 1909. Notes on some South-American mammals, with description of new species. *Annals and Magazine of Natural History*, 8:230-242.
- , 1917. Preliminary diagnoses of new mammals obtained by the Yale National Geographic Society Peruvian Expedition. *Smithsonian Miscellaneous Collections*, 68:1-3.
- Trouessart, E.-L. 1898. *Catalogus mammalium tam viventium quam fossilium*. Nova Edition (prima completa). R. Friedländer & Sohn, Berlin, 664 pp.
- Vieira, C.O.da.C. 1953. Roedores e lagomorfos do Estado de São Paulo. *Arquivos de Zoologia do Estado de São Paulo*, 8:129-168.
- Vittulo, A. D., M. S. Merani, O. A. Reig, A. E. Kajon, O. Scaglia, M. B. Espinosa & A. Perez-Zapata. 1986. Cytogenetics of South American akodont rodents (Cricetidae): new karyotypes and chromosomal banding patterns of Argentinian and Uruguayan forms. *Journal of Mammalogy*, 67:69-80.
- Voss, R. S. 1992. A revision of the South American species of *Sigmodon* (Mammalia: Muridae) with notes on their natural history and biogeography. *American Museum Novitates*, 3050:1-56.
- Voss, R. S. & M. D. Carleton. 1993. A new genus for *Hesperomys molitor* Winge and *Holochilus magnus* Hershkovitz (Mammalia, Muridae) with an analysis of its phylogenetic relationships. *American Museum Novitates*, 3085:1-39.
- Voss, R. S. & L. F. Marcus. 1992. Morphological evolution in muroid rodents II. Craniometric factor divergence in seven neotropical genera, with experimental results from *Zygodontomys*. *Evolution*, 46:1918-1934.
- Voss, R.S., L.F. Marcus & P. Escalante. 1990. Morphological evolution in muroid rodents. I. Conservative patterns of craniometric covariance and their ontogenetic basis in the neotropical genus *Zygodontomys*. *Evolution*, 44:1568-1587.

- Voss, R. S. & P. Myers. 1991. *Pseudoryzomys simplex* (Rodentia: Muridae) and the significance of Lund's collections from the caves of Lagoa Santa, Brazil. *Bulletin of the American Museum of Natural History*, 206:415-432.
- Wagner, J.A. 1842. Diagnosen neuer Arten brasilischer Säugthiere. *Archiv.für Naturgeschichte*, 8:356-362.
- Wied, M. 1826. Beiträge zur Naturgeschichte von Brasilien. *Landes-Industrie-Comptoirs*, Weimar.
- Wiens, J.J. 1995. Polymorphic characters in phylogenetic systematics. *Systematic Biology*, 44:482-500.
- , 1999. Polymorphism in systematics and comparative biology. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 30:327-362.
- Winge, H. 1887. Jordfundne og nulevende Gnavere (Rodentia) fra Lagoa Santa, Minas Geraes, Brasilien. *E Museo Lundii*, 1:1-200.
- Wright, S. 1943. Isolation by distance. *Genetics*, 28:114-138.
- Zuben, F.J.von., L.C. Duarte, G. Stangenhans, L.M. Pessôa & S.F.d. Reis. 1998. Bootstrap confidence regions for canonical variates: application to studies of evolutionary differentiation. *Biometrical Journal*, 40:327-339.

APÊNDICE I: Exemplares examinados.

Oxymycterus dasytrichus: **Bahia**: Cairu, Fazenda Subauma – RM (número de campo - UFMG) 169; Porto Seguro, Reserva Biológica Pau Brasil – UFPB 576; **Espírito Santo**: Castelo – MN42427, 42432, MUZUSP 2497; Santa Teresa – MN 32874, 32877, 32878, 32886, 32889, 32890, 35886, 42428, 42429, 42430, 42431, 5313, 5474, 5665, 6483, 8249; Venda Nova do Imigrante – UFPB 362, 365, 524, 526, 527, 528, 529, 532, PRG (número de campo MZUFV) 957. **Minas Gerais**: Caratinga – UFMG 890, 893; Caratinga, São João do Jacutinga – UFMG 748, 818, 820; Conceição do Mato Dentro – MN13457, Juiz de Fora – MN 42417; Ouro Preto – MN 14568; Passos – MN 12853, 32894, 32896, 32897, 32898, 42419, 42420; Volta Grande – MN 5379. **Rio de Janeiro**: Angra dos Reis – MN2566; Duque de Caxias – MN 5814; Angra dos Reis, Ilha Grande – MN 24929, 24930, 62241, 62242, 62243, 62244, 62245, 62246, 62247, 62248, 62249, 62250, 62251, 62252, 62253, 62254, 62255, 62256, 62257, 62258, 62259, 62260, 62261, 62262, 62263, 62313; Jacarepaguá – MN 32856, 8194; Macaé – MZUSP 2770; Magé – UNB 473; Mangaratiba – MN 5278; Nova Iguaçu – MN 28829, 42824; Parati – MN 6189, 6293, 6294, 6295, 6297, 6298, 6299; Resende – MN 42434, 47981, 47982, 47984, 47985. **São Paulo**: Ubatuba - MN 24405, 24408, 24409, 24410, 24416, 24421, 24426, 24427, 32860, 32861, 32862, 32863, 32865, 32866, 32867, 32869, 32870, 32873, 5269, 5285, 5288, 5289, 5304, 5305, 5306, 5312, 5318, 5325, 5370, 5371, 5372, 5411, 5483. **Forma escura de Viçosa**: Minas Gerais, Viçosa, Mata do Paraíso - MZUFV (antigo CM) 204, 432, 569, 581, 628, 639, 641, 659, 674, 703, 712, 715, 725, PRG (números de campo MZUFV) 100, 187, 197, 212, 131.

Oxymycterus roberti: **Goiás**: Anápolis – MN 32890, 4363, 5199, 5200, 5212, 5213.

Oxymycterus quaestor: **Rio de Janeiro**: Teresópolis – MN 2026, 2120, 2121, 2564, 42425, 6343, MZUSP 865, 2498; LBCE (números de campo MN) 2492, 2493, 2494, 2495, 2497, 2498.

Oxymycterus rufus: **Buenos Aires**: Berazategui, Hudson - 08.IV.97.31, 08.IV.97.33, 08.IV.97.34, 08.IV.97.37, 08.IV.97.39, 26.V.99.7, 26.V.99.7, 26.V.99.8, 05.VI.00.3, 08.IV.97.32, 08.IV.97.40, 08.IV.97.42, 08.VIII.00.3, 08.VIII.00.4; Delta do Paraná, 25km S de Sierra Azul – MACN 14072; Mar del Plata, Arroyo de las Corrientes – MNCNLC 168, 178, 201, 208, 212, 214, 221, 222, 231, 8475, 8476, número provisorio (MNCNLC) 212, 3, 4, 5, 6; Arroyo las Brusquitas – MMP Ma 109, 87, 90; Arroyo Seco – MMP Ma 165, 175; Chapadmalal, Estafeta - MACN 15428, 15429, MMP Ma 194, 195, 272; Ensenada, Punta Lara – MACN 13319, 13320, 13446, 13447, 13448, 15402, 15403, 15406, 15407, 15410, 20344, 20345, 20347, 20348, 20349, 20350, 20351, 20352, 20353, 20354, 20355, 20356, 20358, 20359, 20360, MLP 10.VIII.00.1, 10.VIII.00.3, 08.IV.97.41, 08.IV.97.43, MN 33664, 33669, 33670, 33671, 33672, 33673, 33675.

Miramar – MLP 15.II.96.48, 15.II.96.53, 15.II.96.62, 15.II.96.63; Otamendi, INTA – MACN 18609, 18732, 18733, 19073, 19074, 19075, 19076, 19078, 20317, 20318, 20319, 20320, 20321, 20322, 20323, 20324, 20325, 20326, 20361, 20365, 20366, 20367, 20368, 20369, 20370, 20371, 20372, 20374, 20375, 20376, 20377, 20378, 20379, 20380, 20381, 20381, 20382, 20383, 20384, 20385; Sierra de la Ventana – MLP 5.II.96.63, 5.II.96.1, 5.II.96.17, 5.II.96.19, 5.II.96.20, 5.II.96.21, 5.II.96.22, 5.II.96.23, 5.II.96.25, 5.II.96.27, 5.II.96.28, 5.II.96.29, 5.II.96.31, 5.II.96.32, 5.II.96.35, 5.II.96.36, 5.II.96.37, 5.II.96.4, 5.II.96.51, 5.II.96.52, 5.II.96.56, 5.II.96.57, 5.II.96.59, 5.II.96.6, 5.II.96.60, 5.II.96.61, 5.II.96.62, 5.II.96.64, 5.II.96.65, 5.II.96.66, 5.II.96.67, 5.II.96.68, 5.II.96.7, 5.II.96.71, 5.II.96.76, 5.II.96.8; Tandil, El Calvario – MLP 19.X.00.6; Tornquist, Abra de la Ventana – MACN 14939, 14940, 14941, 14944, 14945, 14946, 14948, 14949, 14950, 14957, 14970, 14974, 15393, 15421, 15711, 15712, 15713, 15714, 15717, 15722, 15724, 15725, 15728, MLP 14.IX.99.64, 14.IX.99.71. **Córdoba**: Calamuchita – MACN 14757, 147568, 14778; Pampa da Achala – MACN 15297, 15305. **Corrientes**: Saladas – MACN 20916, 14034; Ituzaingó – MLP 01.X.94.75; San Miguel, San Juan Poriahú – MLP 163, 164, 191, 195, 196, 197; Yacyretá - MLP 01.X.94.1. **Entre Ríos**: Yuquerí – MZUSP 573; Parque Nacional El Palmar – MACN 17783, 17784, 17785, 18595, 18596. **San Luis**: Villa del Carmen – MACN 15334. **Forma avermelhada de Viçosa**: Minas Gerais, Viçosa, Mata do Paraíso - MZUFV (antigo CM) 595, 596, 646, 661, 662, 664, 699, 713,

719, 729, 740, 741, PRG (números de campo MN) 47, 174, 182, 191, 194, 195, 196, 450;
Ouro Preto, Parque Estadual do Itacolomi – UFMG 1019, 1069.

Oxymycterus aff. *nasutus*: **Minas Gerais**: Itamonte - MN46651.

Oxymycterus caparoe: **Minas Gerais**: Parque Nacional do Caparaó - ARL (número de campo MN) 06.

APÊNDICE II

Distâncias genéticas corrigidas (Kimura 2-parâmetros) entre amostras de *Oxymycterus*. Entre parênteses se encontra o intervalo de distâncias obtidas quando mais de um haplótipo de uma amostra foi comparado.

	<i>O. rufus</i> (Córdoba1)	<i>O. rufus</i> (Córdoba2)	<i>O. rufus</i> (Buenos Aires)	<i>O. rufus</i> (San Luis)	Forma avermelhada	Forma escura	<i>O. dasytrichus</i> (Espírito Santo)	<i>O. dasytrichus</i> (Bahia)	<i>O. delator</i>	<i>O. paramensis</i>	<i>O. huska</i>	<i>O. quaeator</i>	<i>O. aff. nasutus</i>
<i>O. rufus</i> (Córdoba1)	--												
<i>O. rufus</i> (Córdoba2)	0,027	--											
<i>O. rufus</i> (Buenos Aires)	0,016	0,011	--										
<i>O. rufus</i> (San Luis)	0,011	0,016	0,005	--									
Forma avermelhada	0,034 (0,03-0,039)	0,035 (0,033-0,036)	0,024 (0,025-0,022)	0,029 (0,03-0,027)	0,005 (0,008-0,003)								
Forma escura	0,078 (0,074-0,083)	0,083 (0,08-0,086)	0,077 (0,074-0,08)	0,077 (0,074-0,08)	0,085 (0,077-0,092)	0,008							
<i>O. dasytrichus</i> (Espírito Santo)	0,107 (0,110-0,104)	0,104	0,098	0,098	0,109 (0,107-0,110)	0,058 (0,058-0,058)	--						
<i>O. dasytrichus</i> (Bahia)	0,105	0,099	0,099	0,099	0,101 (0,102-0,099)	0,059 (0,056-0,062)	0,088	--					
<i>O. delator</i>	0,086	0,08	0,074	0,074	0,082 (0,08-0,083)	0,044 (0,042-0,047)	0,067	0,062	--				
<i>O. paramensis</i>	0,071	0,059	0,059	0,059	0,079 (0,077-0,08)	0,062 (0,062-0,062)	0,083	0,077	0,045	--			
<i>O. huska</i>	0,077	0,071	0,059	0,065	0,073 (0,071-0,074)	0,075 (0,074-0,077)	0,098	0,086	0,065	0,059	--		
<i>O. quaeator</i>	0,071	0,059	0,053	0,059	0,067 (0,065-0,068)	0,065 (0,065-0,065)	0,085	0,08	0,065	0,053	0,065	--	
<i>O. aff. nasutus</i>	0,083	0,083	0,077	0,071	0,085 (0,083-0,087)	0,056 (0,053-0,059)	0,07	0,065	0,039	0,053	0,074	0,068	--
<i>O. caparoe</i>	0,086	0,074	0,068	0,074	0,076 (0,074-0,077)	0,084 (0,084-0,084)	0,089	0,099	0,068	0,066	0,081	0,062	0,062

ERRATA

fl. linha(s) onde se lê:

leia-se:

2 6-8 (...) e apenas três estudos (...). Dois destes estudos (...) e apenas quatro estudos (...) (HACKETT & ROSENBERG 1990), *Drymophila* e *Hypocnemis* (...). O terceiro (...). O quarto (...).

3 16 periferia (obs.pess.). No Parque Nacional (...).

periferia (obs. pess.). Num campo de terra firme do Amapá, *F. rufa* ocorre no ecótono entre o campo e buritizais, sendo substituída por *F. grisea* na mata ribeirinha mais densa (SILVA *et al.* 1997). No Parque Nacional (...).

87 26 ----- inserir:

Hackett, S. J. (1993) Phylogenetic and biogeographic relationships in the Neotropical genus *Gymnopathys* (Formicariidae). *Wilson Bulletin* 105: 301-315.

93 18 ----- inserir:

Silva, J. M. C. da, D. C. Oren, J. C. Roma & L. M. P. Henriques (1997) Composition and distribution patterns of the avifauna of an amazonian upland savanna, Amapá, Brazil. *Ornithological Monographs* 48: 743-762.